VERBRAUCHSKOAGULOPATHIE UND DISSEMINIERTE INTRAVASALE GERINNUNG UNTER DEM EINFLUSS EINES FIBRINOLYSEHEMMERS

II. Disseminierte intravasale Gerinnung
Ausgewählte morphologische Untersuchungen

Hans-Joachim Genz

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546017_0014

Aus der I. Frauenklinik und Hebammenschule der
Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. J. Zander

Verbrauchskoagulopathie und disseminierte intravasale Gerinnung unter dem Einfluß eines Fibrinolysehemmers

II. Disseminierte intravasale Gerinnung

Ausgewählte morphologische Untersuchungen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hans - Joachim Genz

aus
München
1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Priv.- Doz.	Dr. H. Ludwig
1. Coreferent:	Prof.	Dr. J. Zander
2. Coreferent:	Prof.	Dr. R. Marx
Dekan:	Prof.	Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27. 6. 1972

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Meinen Eltern

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
EINLEITUNG	
1. Theorie d. experimentellen Erzeugung einer Verbrauchskoagulopathie u. der disseminierten intravasalen Gerinnung	3
2. Fragestellung	6
MATERIALGEWINNUNG u. KRITERIEN HISTOLOGISCHER AUSWERTUNG	
I. Materialgewinnung	9
II. Kriterien d. histologischen Auswertung	12
ERGEBNISSE u. ihre GRAPHISCHE DARSTELLUNG	
I. Ergebnisse	
Leerversuch	20
Thrombininfusion	26
Kombination v. Thrombin u. Trasylol	
Versuchstyp " A "	34
Versuchstyp " B "	40
Versuchstyp " C "	47
Versuchstyp " D "	54
Versuchstyp " E "	61
Versuchstyp " E " bei künstlicher Acidose	69
II. Graphische Darstellung der Ergebnisse	
Anleitung zum Verständnis d. Graphiken	77
Graphiken	80
DISKUSSION DER ERGEBNISSE	85
ABBILDUNGEN	94
ZUSAMMENFASSUNG	108
LITERATURVERZEICHNIS	113

EINLEITUNG

1. Theorie der experimentellen Erzeugung einer Verbrauchskoagulopathie und der disseminierten intravasalen Gerinnung beim Kaninchen

Grundlage unseres Experiments war die Erzeugung einer Verbrauchskoagulopathie nach der Definition von Lasch (16. 17, 18, 19), sowie die Erzeugung einer disseminierten intravasalen Gerinnung nach der Definition von McKay. (24)
In Anlehnung an das experimentelle Vorgehen von Vinazzer wurde eine einstündige Thrombininfusion zur Erzeugung einer Verbrauchskoagulopathie gewählt. (45)

Eine langsame intravenöse Infusion von Thrombin bedingt einen Eintritt der Gerinnung in die zweite Phase, damit eine Aktivierung des Fibrinogens zu Fibrin. (34)
Außerdem wird nach Seegers (40) eine Hemmung der Prothrombinaktivierung durch " Inhibitory source material " (ISM) angenommen, das unter Mitwirkung von Thrombin und Calciumionen einen inaktiven Komplex mit Faktor VII bildet. Thrombin aktiviert katalytisch Faktor VIII, der dann das ISM inaktiviert und so die Prothrombinaktivierung bedingt. Durch die Aktivierung des Prothrombin wird die Gerinnung in Gang gesetzt, die dann autokatalytisch (40) oder durch Aktivierung von essentiellen Thrombokinasefaktoren (5) abläuft.

Eine generalisierte intravasale Gerinnung ist beim Kaninchen nicht zu erwarten, wenn Thrombin langsam intravenös infundiert wird. (35)
Bei experimentell erzeugter Verbrauchskoagulopathie ist nur dann gleichzeitig mit disseminierter intravasaler Gerinnung zu rechnen, wenn das fibrinolytische Potential gehemmt wird. Das wurde am Beispiel der RES - Blockade vor Thrombininfusion gezeigt. (21)

Die Ergebnisse der Vorversuche bei der von Vinazzer angegebenen Thrombindosis (200 NIH Einheiten / kg Körpergewicht) entsprachen nicht den Erwartungen.
Erst bei doppelter Thrombindosis (400 NIH Einheiten / kg Körpergewicht) war es im Rahmen unseres Experiments möglich, eine Verbrauchskoagulopathie zu erzeugen.

Diese Verbrauchskoagulopathie wurde durch die Analyse der Gerinnungsfaktoren der Vorphase, des Fibrinogens und der Thrombozyten kontrolliert. Parallel lief eine rein qualitative, globale Gerinnungsanalyse mit Hilfe der Thrombelastographie. (7)

Die gerinnungsphysiologischen Analysen wurden gleichzeitig durch histologische Untersuchungen der Mikrostrombahn von Nieren und Lungen der Versuchstiere auf Fibrinthromben erweitert.

2. Fragestellung

1. Inwieweit läßt sich eine experimentell erzeugte Verbrauchskoagulopathie durch Fibrinolysehemmung mit Trasylol (46) beeinflussen ?

2. Ist bei Fibrinolysehemmung durch Trasylol mit disseminierter intravasaler Gerinnung zu rechnen ?

3. Besteht im Rahmen einer Verbrauchskoagulopathie bei gleichzeitiger Hemmung der Fibrinolyse durch Trasylol eine zeitliche Abhängigkeit zwischen Auftreten und Ausmaß von Veränderungen im Gerinnungssystem und ihrem morphologisch faßbaren Substrat Fibrin ?

4. Stehen beide Veränderungen in einer zeitlichen Abhängigkeit zu Art und Zeitpunkt der Inhibitorapplikation ?

MATERIALGEWINNUNG UND KRITERIEN DER HISTOLOGISCHEN AUSWERTUNG

I. Materialgewinnung

I. Materialgewinnung

Nachdem die Versuchstiere durch eine Überdosis Nembutal getötet worden waren, wurden Bauch- und Thoraxhöhle zur Organentnahme breit eröffnet. Zu diesem Zeitpunkt konnte das Herz noch schlagen, oder flimmern. Nach Abklemmen der Aa. und Vv. renales wurden beide Nieren entfernt und, von der capsula fibrosa befreit, der Länge nach gespalten in 5 % Formalin fixiert. Herz und Lungen wurden nach Abklemmen der Aorta, A. pulmonalis und den Vv. cavae in einem entfernt, anschließend die Lungen an den Hili abgetrennt. Die Fixierung erfolgte ebenfalls in 5 % Formalin.

Neben den genannten Organen wurden noch die Nebennieren, Leber, Milz und bisweilen auch das Gehirn entnommen und fixiert. Zur systematischen histologischen Auswertung gelangten jedoch nur die Lungen und Nieren.

Makroskopisch erkennbare Veränderungen an den Organen wurden bei der Organentnahme notiert.

Die Formalinlösung hatte eine Temperatur von + 4 $^{\circ}$ C, damit enzymatische Aktivitäten in den Organen nicht nur durch Denaturieren der Proteine bei der Fixation, sondern auch durch Kälte vermindert und gestoppt werden.

24 Stunden später wurden die Organe auf die zur Anfertigung der histologischen Schnitte notwendige Größe zurechtgeschnitten und erneut in 5 % Formalin aufbewahrt.

Parallel zur Fixierung in 5 % Formalin wurden bei 11 Versuchen Organe auch in 96 % Alkohol fixiert. (2) Nach 3 Stunden wurden die Präparate vom 96 % Alkohol in 80 % Alkohol überführt, da die alleinige Fixation in 96 % Alkohol zu technisch schlecht zu verarbeitenden Organstücken führte.

Alle Organstücke wurden nach klassischer Methode in Paraffin eingebettet.

Färbung :

Die 4 µ dicken Paraffinschnitte wurden der Fibrinfärbung nach Ladewig (14) unterzogen : Auf die Vorbehandlung mit Xylol und die absteigende Alkoholreihe folgte die Färbung mit Weigert's Eisenhämatoxylin A + B, 5 % Phosphorwolframsäure und Anilinblau - Goldorange - Säurefuchsin - Lösung. Differenziert wurde mit 1 % HCl - Alkohol und 96 % Alkohol. Über die aufsteigende Alkoholreihe und zwei Xylolbäder wurden die Schnitte entwässert und anschließend nach der üblichen Methode eingebettet.

II. Kriterien der histologischen Auswertung von Nieren und Lungen der Versuchstiere

II. Kriterien der histologischen Auswertung von Nieren und Lungen

A. Nieren

1. Auswahl der Präparate :

Nach Möglichkeit wurden von jedem Versuchstier zwei Präparate entsprechend den beiden Nieren ausgewertet. Die Präparate wurden nach folgenden Gesichtspunkten ausgewertet und ausgewählt :

a. Da alle Präparate auch quantitativ ausgewertet werden sollten, mußte der Nierenausschnitt im Bereich der Rinde mindestens 1 cm breit sein. Dadurch wurde garantiert, daß in diesem Rindenabschnitt mindestens 100 Glomerula zu finden waren. Die Mindesthöhe wurde mit 1 cm in gleicher Weise festgelegt.

b. Das Präparat sollte möglichst wenige Läsionen (Einrisse, Spalten, Mikrotommesserscharten) aufweisen.

c. Das Präparat mußte einen repräsentativen Ausschnitt der Nierenrinde und des Nierenmarks zeigen.

Anmerkung : Bei einigen Präparaten war die Papillenspitze nicht mitgeschnitten. Die übrigen Präparate zeigten aber, daß die Papillenspitze sich stets gleich darstellt und niemals thrombotisch verschlossene Kapillaren oder Artefakte zeigt.

2. Befunderhebung :

Die mikroskopische Untersuchung der Nierenpräparate zielte in erster Linie auf den Nachweis von Fibrinthromben in der Mikrostrombahn und dem übrigen Gefäßbett der Nieren. Ferner wurde an den Gefäßwänden und den Tubulusepithelien nach Veränderungen gesucht, die im Zusammenhang mit dem Auftreten von Fibrinthromben stehen könnten. Die möglichen Einzelbefunde wurden in einer Liste geordnet zusammengefaßt und verschlüsselt auf Karteikarten übertragen. Jedem Nierenpräparat wurde eine Karteikarte zugeordnet. Durch dieses System gelang es, die große Zahl der möglichen Einzelbefunde in eine Form zu bringen, die den Vergleich der Präparate untereinander ohne Schwierigkeiten gestattete.

Im einzelnen wurde differenziert nach Fibrinthromben in den Glomerulumkapillarschlingen, in den intertubulären Kapillaren der Nierenrinde (Abb. 1) und des Nierenmarks.

Bei der Untersuchung von Fibrin, oder auf Fibrin verdächtiger Strukturen innerhalb der Glomerulumkapillarschlingen wurden die Befunde in vier Kategorien (a - d) eingeteilt :

"a" : Rot gefärbte Erythrozyten, Verdacht auf Fibrin, das sich an den Erythrozyten niedergeschlagen hat. Sogenanntes " Fibrin - coating " der Erythrozyten.

"b" : Staubartig feinverteiltes Fibrin, ohne Nachweis einer Thrombenbildung.

"c" : Bildung von Fibrinthromben an einer umschriebenen Stelle der Kapillarschlinge. (Abb. 2)

"d" : Massive intravasale Gerinnung mit Verschluß des größten Teiles, oder der gesamten Kapillarschlinge durch Fibringerinnsel. (Abb. 3)

Wie sich bei der Auswertung herausstellen sollte, mußten die Befunde der Kategorie "a" als Artefakte, und die der Kategorie "b" als zu fraglich angesehen werden, um als Fibrin interpretiert zu werden. In der vorliegenden Arbeit wurden nur die Befunde aus den Kategorien "c" und "d" als Fibrin gewertet.

3. Zählen der Glomerula :

Bei der histologischen Durchmusterung der Präparate auf Fibrinthromben in der Mikrostrombahn der Niere zeigte es sich, daß Fibringerinnsel am ehesten in den Glomerulumkapillarschlingen nachgewiesen werden konnten. Um auch ein ungefähres Bild über das Ausmaß der Bildung intravasaler Gerinnsel zu bekommen, wurden die Glomerula insgesamt ausgezählt, und der Anteil fibrinbefallener Glomerula, aufgeschlüsselt nach den vier oben beschriebenen Kategorien, bestimmt. Da der Fibrinbefall nicht immer diffus in einem Organ auftrat, sondern innerhalb des Präparates auch lokale Unterschiede bestehen konnten, wurden stets alle erfaßten Glomerula gezählt, nicht nur 100 Glomerula, wie von anderen Autoren angegeben wurde. (42)

Technik der Zählung von Glomerula :

Vergrößerung : 40 x 8 fach

Mit Hilfe des Kreuztisches wurde das Präparat in einzelne aufeinander folgende und ein Gesichtsfeld breite Schichten zerlegt. Diese Zeilen überlappten sich maximal um die Breite einer halben Tubulusepithelzelle. Glomerula, die vom oberen oder unteren Rand des Gesichtsfeldes teilweise verdeckt wurden, zählten nur dann, wenn mehr als die Hälfte des Glomerulums noch im Gesichtsfeld lag. Die Zähltechnik wurde an 51 Präparaten der Vorversuche H 1 - H 18 entwickelt und geübt. Bei der Auszählung der

126 Nierenpräparate, die zu den eigentlichen Versuchsserien gehörten, galt ein Fehler von +/- 5 % als äußerste Fehlergrenze. Mehrfachzählungen des gleichen Präparates zeigten, daß der Fehler meistens +/- 3 % betrug. Bei Mehrfachzählungen war dem Zählenden nicht bekannt, welches Präparat er gerade auszählte. Dadurch sollten subjektive Fehler vermieden werden. Zusätzlich wurde die Zählrichtung um 90° geändert. Bei allen Mehrfachzählungen wurde der Mittelwert aus allen Zählungen, die nicht mehr als 5 % voneinander abwichen als Ergebnis betrachtet.

B. Lunge

Bei der Auswahl der Präparate wurde darauf geachtet, daß die Präparate möglichst frei von Läsionen (Einrisse, Mikrotommesserscharten) waren. Außerdem mußten die Präparate gut gefärbt und möglichst frei von Artefakten sein. Die Befunderhebung beschränkte sich auf den Nachweis von Fibrinthromben in der Mikrostrombahn und eventuell auch größeren Gefäßen. Gleichzeitig wurde auf Veränderungen an den Gefäßwänden und dem übrigen Lungengewebe geachtet, die mit dem Auftreten von Fibrinthromben im Zusammenhang stehen könnten. Ferner wurde darauf geachtet, ob es durch die obligatorische Hyperinfusion zu Veränderungen in der Architektur des Lungengewebes, etwa in der Form eines diffusen interstitiellen Ödems gekommen war. Außerdem wurde registriert, in welchen Lungen es zum Austritt von Erythrozyten in die Alveolen gekommen war.

Verwendete Mikroskope :

Auswertung : Mikroskop der Firma Carl Zeiss
Fotographien : Fotomikroskop der Firma Leitz

Film : Agfa HS 50 " Professional "

Vergrößerungen :

Untersucht wurde mit dem Trockensystem bis 40 x 12,5 facher Vergrößerung. Für feinere Strukturen wurde die Immersionsoptik 100 x 8 fach und zum Teil auch 100 x 12,5 fach eingesetzt.

ERGEBNISSE UND IHRE GRAPHISCHE DARSTELLUNG

I. Ergebnisse

Leerversuch " L 3 "

1. Daten zum Versuch und Schilderung des Versuchsablaufs

Das Versuchstier hatte ein Gewicht von 3,2 kg.

Der Blutverlust des Tieres, bedingt durch die Entnahme von Blutproben betrug 53 ml.

Statt der bei den Hauptversuchen üblichen kombinierten Infusion von Thrombin und dem Plasmaexpander Dextran 60 (Macrodex 6 %) wurden bei diesem Versuch lediglich 60 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) infundiert, davon 45 ml in 66 Minuten.

50 ml physiologische Kochsalzlösung dienten als Ersatz für die bei den Hauptversuchen übliche Applikation von 500 000 KIE Kallikrein - Trypsin Inhibitor (Trasylol). Diese 50 ml physiologische Kochsalzlösung wurden wie folgt verabreicht :
20 ml wurden unmittelbar nach dem Ende der Plasmaexpanderinfusion (Macrodex 6 %) für 2,5 Minuten gespritzt. Weitere 30 ml wurden anschließend 16 Minuten lang infundiert. Diese Infusion war 19 Minuten nach dem Ende der Plasmaexpanderinfusion (Macrodex 6 %) beendet.
15 ml physiologische Kochsalzlösung wurden während des Versuchs bei der Entnahme der Blutproben und zum Offenhalten des Venenkatheters gespritzt und infundiert.

Das Versuchstier wurde 158 Minuten nach dem Ende der Plasmaexpanderinfusion (Macrodex 6 %) getötet. Das Ende der Infusion physiologischer Kochsalzlösung, als Trasylolersatz, lag zu diesem Zeitpunkt 139 Minuten zurück.

Dieser Leerversuch entspricht in seinem Ablauf den Versuchen H 47 - H 49, H 58, H 59, T 1 - T 3 und den Versuchen H 51 - H 57.

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen des Versuchstieres " L 3 " (Leerversuch)

Weder in den Nieren, noch in den Lungen des Versuchstieres konnte in irgend einem Abschnitt der Mikrostrombahn, oder in den übrigen Gefäßen Fibrin gefunden werden.
Entsprechend negativ ist auch das Ergebnis aus der Zählung der Nierenglomerula : 0,0 % der ausgezählten Glomerula zeigten Fibringerinnsel der Kategorien "c", oder "d". Es wurden zwei Präparate, entsprechend den beiden Nieren des Versuchstieres, ausgezählt.

An den Präparaten dieses Modellversuchs lassen sich die morphologischen Veränderungen, die durch reine Volumenbelastung bei der Infusion, oder durch den Blutverlust entstanden sein können studieren. Ferner können die Artefakte, die bei der Fibrinfärbung nach Ladewig (14) auftreten dargestellt werden.

3. Morphologische Veränderungen

Die Nieren zeigen weder makroskopisch, noch mikroskopisch morphologische Veränderungen.
Die Lungen können ohne makroskopisch erkennbares Substrat folgende Veränderungen in ihrer Feinstruktur zeigen :
Dehiszenz der Alveolarepithelien mit Verbreiterung der Alveolarsepten. In die vergrößerten Interzellulärräume dringt Ödemflüssigkeit ein. Diese Veränderungen treten nicht generalisiert auf. An einigen Stellen führt dieser Prozeß zu einer zunehmenden Homogenisierung des Lungengewebes. Dabei können keine Alveolen mehr nachgewiesen werden. Die Ödemflüssigkeit bildet kleine Lacken in den Zwickeln zwischen weit auseinandergetretenen Zellen. In diesen von der normalen Struktur abweichenden Gewebsbezirken lassen sich massenhaft, auch extravasal gelegene Erythrozyten finden.

Diese Erythrozyten dringen auch in die benachbarten, noch intakten Alveolen ein.
Grenzen die stark veränderten Gebiete unmittelbar an die Pleura an, so kann man sie makroskopisch, allerdings nicht regelmäßig als dunkelbraune, einige Millimeter große Flecke erkennen.

4. Artefakte, die bei der Fibrinfärbung nach Ladewig beobachtet werden

Die unter Punkt 3. geschilderten schweren Veränderungen in der Lungenstruktur sind besonders anfällig für falsch positive Fibrinfärbung. Statt blau färbt sich die Ödemflüssigkeit gerne rot an. Dabei werden alle Übergänge im Farbton zwischen blaß rosa bis tief burgunderrot gefunden. Eine Feinstruktur läßt sich in der Regel nicht erkennen, doch können feinste Granulationen, oder kleine, optisch leere Bläschen, oder Vakuolen auftreten. Die rot gefärbte Ödemflüssigkeit setzt sich von den umliegenden Zellen durch einen schmalen hellblauen Saum ab, der beim Spielen mit der Mikrometerschraube des Mikroskops deutlicher aufleuchtet. Die Ödemlacken sind in der Regel scharf begrenzt, sie können sich aber auch als feine rote Fäden zwischen noch eng aneinanderliegenden Zellen fortsetzen und mit anderen konfluieren. Diese feinsten Verbindungen sehen Fibrinfäden sehr ähnlich. (Abb. 10, 11)

Auch das Blutplasma, das normalerweise blau gefärbt ist, kann sich homogen rot darstellen. Eine Feinstruktur läßt sich nicht erkennen.

In den Tubuluslumina der Nieren findet man oft ungefärbte Flüssigkeit, die sich bei der Fixation in die Mitte des Lumens zurückgezogen hat und nur noch mit einigen fädigen Ausläufern an den Tubulusepithelien haftet. Besonders im Bereich der äußeren Nierenrinde färbt sich diese Flüssigkeit gerne rot an. Der fädige Aufbau, und die oft bei den Versuchstieren festgestellte Proteinurie sprechen dafür, daß es sich um eine eiweißreiche Flüssigkeit handelt.

Die Erythrozyten sind normalerweise gelbgrün, goldgelb oder blau gefärbt. Daneben findet man aber auch fast regelmäßig rote Erythrozyten. Es handelt sich dabei nicht um einen Niederschlag von Fibrin am einzelnen Erythrozyten (Fibrin - coating), sondern um ein färberisches Artefakt. Dieses Phänomen läßt sich außer bei dem Leerversuch auch bei fast allen anderen Präparaten finden. Meistens lassen sich homogen rot gefärbte Erythrozyten nachweisen. Die Intensität der Färbung nimmt zur Mitte des Erythrozyten hin ab. Andere haben die rote Farbe nur teilweise angenommen. So sieht man rote Ringe mit ungefärbtem Zentrum, oder keulenförmige rote Gebilde, die einen Teil der Erythrozytenoberfläche überziehen. Berücksichtigt man, daß die meisten Erythrozyten verkantet im Präparat liegen, so ist der Formenreichtum, mit dem sich diese roten Gebilde darstellen sehr groß. Deshalb ist es besonders im Kapillarbereich schwierig, Fibrin von solchen rot angefärbten Erythrozyten zu unterscheiden. Deshalb wurde an allen zweifelhaften Stellen in einem Präparat der Verdacht auf Fibrin fallengelassen, wenn das rot gefärbte Gebilde in seiner Größe etwa einem Erythrozyten entsprach und in anderen Organpartien rot gefärbte Erythrozyten auftraten.

In größeren Gefäßen werden oft massenhaft rote neben normal gefärbten Erythrozyten gefunden. Durch das blau gefärbte Plasma ziehen sich dann auch oft feine rote Fäden, die an einigen Stellen perlschnurartig verdickt sind und untereinander netzartig konfluieren. Dabei handelt es sich nicht um Fibrinfäden, sondern eher um die Reste von Erythrozyten, die ursprünglich total, oder nur teilweise rot angefärbt waren. Mit Hilfe der Ölimmersion lassen sich nämlich bei 800 facher, b.z.w. 1250 facher Vergrößerung noch ganz zart die Strukturen zugrundegegangener Erythrozyten in der Grundsubstanz nachweisen.

Die Gefäßwände der Arterien, in geringerem Umfang auch die Wände der Venen färben sich oft schwach rötlich an, ohne daß diese Farbe an vorgegebene Strukturen gebunden wäre. Dagegen sprechen elastische

Elemente der arteriellen Gefäßwand leicht auf Fibrinfärbung mit intensiver roter Farbe an. Während die Elastica interna als schmales, schwach rot reflektierendes Band geschlängelt um das Gefäßlumen läuft, tritt im Bereich der Elastica externa oft ein roter Ring, oder ein Sektor tief rot gefärbter, leicht gewellter Fasern auf. Bei längs getroffenen Gefäßen liegen diese Fasern fischzugartig in der Gefäßwand. Sie lassen sich leicht mit Fibrinfäden verwechseln, wenn der Schnitt so ungünstig liegt, daß sich Gefäßwand und Lumen im Längsschnitt übereinander projezieren. Man sieht dann parallel verlaufende rote Fasern, zwischen denen die Erythrozyten, die im Gefäßlumen liegen, deutlich durchscheinen.

Innerhalb der Nierenrinde können nesterweise, oder auch diffus Tubulusepithelien gefunden werden, die atypisch gefärbt sind. Dabei ist das Zytoplasma normal blau gefärbt, nur treten an der lumenfernen Zellbasis feinste rötliche Granula auf. Daneben findet man aber auch stärker veränderte Zellen, die ein aufgehelltes, schwach rosa gefärbtes Zytoplasma zeigen und die keine basalen Granula aufweisen. Bei beiden atypisch gefärbten Zelltypen können die Zellkerne statt blau, dunkelrot oder rostbraun gefärbt sein. Nucleolus und Chromatingerüst sind stets zu erkennen.
Ähnliche Veränderungen zeigen auch einige Zellen in den Lungenpräparaten.
Die Interpretation dieser Phänomene ist schwierig. Da sie im Leerversuch und bei Versuchstieren, bei denen ebenfalls keine Fibrinthromben gefunden wurden (T 1 - T 11) genauso auftraten, wie bei Versuchstieren, bei denen die terminale Strombahn massiv durch Fibrin verschlossen war, muß ein Zusammenhang mit dem Auftreten von Fibringerinnseln abgestritten werden. Es handelt sich also nicht um Zellen, die durch Obstruktion der terminalen Strombahn in Sauerstoffmangel gekommen sind. Auch lassen sich keinerlei degenerative Zeichen an den Zellkernen, wie etwa Pyknose des Kerns, feststellen. Ebenfalls unwahrscheinlich ist es, daß die Tubulusepithelien kleinste Fibrinpartikel passiv durch geschädigte Zellwände, oder aktiv

durch Phagozytose aufgenommen haben und als feinste Granula speichern. Dagegen spricht ebenfalls die Tatsache, daß diese Zellen in Präparaten des Leerversuchs und anderer fibrinfreier Versuche gefunden werden.
Vielmehr sieht es so aus, als seien dies schlecht fixierte Zellen oder Zellverbände, in deren Zytoplasma durch Autolyse Eiweißkörper frei werden, die auf die Fibrinfärbung positiv ansprechen.

Der Epithelbesatz größerer Bronchien färbt sich vereinzelt intensiv rot an. Dabei handelt es sich um Becherzellen, deren Sekret sich leuchtend rot darstellen kann.

Die äußersten Zellschichten eines Organstückchens am Organrand und den Schnittflächen stellen sich oft völlig atypisch dar :
Die Zellkerne färben sich tief rotbraun an, die Zytoplasmen und das interstitielle Gewebe sind intensiv und leuchtend rot gefärbt. Feinere Strukturen, wie z. B. die Zellwände lassen sich nur noch undeutlich erkennen. Es kommt zu einer allgemeinen Homogenisierung dieses Organsaumes. Vermutlich sind derartige Veränderungen dem Fixationsvorgang zuzuschreiben. Es könnte sich dabei um Druckstellen, oder um zu forciert fixierte Organteile handeln. Für die Annahme, daß es sich dabei um Druckstellen handelt spricht der Umstand, daß stets mehrere Organe in einem Glas zur Fixation untergebracht wurden. Dadurch war ein gewisser Druck der Glaswände auf die Organe, sowie der Organe untereinander nicht zu vermeiden.
Für die zweite Annahme spricht die Tatsache, daß Präparate, die in 96 % Alkohol, statt in 5 % Formalin fixiert wurden, diese Artefakte in viel größerem Ausmaß und regelmäßig zeigten, während sie bei der Formalinfixierung eher die Ausnahme, als die Regel waren.

Thrombin - Infusion

Versuche H 25, H 27, H 29 - H 35

1. Daten zu den Versuchen und Schilderung des Versuchsablaufs

Die weiblichen Versuchstiere waren im Durchschnitt 2,8 kg schwer. Das leichteste Tier wog 2,2 kg, das schwerste 3,7 kg.

Während des Versuchs verloren die Kaninchen je nach der Anzahl der entnommenen Blutproben zwischen 19 und 88 ml Blut.

Dieser Blutverlust wurde durch die Infusion von Dextran 60 (Macrodex 6 %) und physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen. Dextran 60 (Macrodex 6 %) diente weiter auch als Lösungsmittel, b.z.w. Träger von Thrombin. Die physiologische Kochsalzlösung wurde in erster Linie zum Offenhalten des Venenkatheters nach der Thrombininfusion gebraucht.
Die Versuchstiere H 25 und H 27 bekamen 67 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %), alle anderen 60 ml. Von der physiologischen Kochsalzlösung wurden je nach Dauer des Versuchs zwischen 4 und 29 ml benötigt.

Thrombin :
Alle Versuchstiere bekamen die Dosis von mindestens 400 NIH Einheiten Thrombin/ kg Körpergewicht infundiert. Dem Versuchstier H 32 wurden probeweise 470 NIH Einheiten Thrombin / kg Körpergewicht infundiert, ohne daß das histologische Bild durch diese Dosissteigerung verändert worden wäre. Die Gesamtdosis Thrombin wurde in 45 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) gelöst und jedem Tier in 60 Minuten infundiert. Dieses Zeitlimit wurde um maximal 4 Minuten überschritten. Das entspricht einem Fehler von + 6 %. Als maximaler Fehler für die Thrombininfusionszeit (60 Minuten) galt +/- 10 %.

Der Zeitraum zwischen dem Ende der Thrombin- / Dextran 60 - Infusion (ta Thrombin)[+] und dem Ende des einzelnen Versuchs wurde variiert. Dadurch standen der histologischen Auswertung Präparate zur Verfügung, die zwischen 16 und 128 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion (ta 16 Minuten - ta 128 Minuten) den Versuchstieren entnommen worden waren.

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen der Versuchstiere H 25, H 27, H29 - H 35.

a. Niere

Bei den neun vergleichbaren Versuchen dieser Reihe wurde in den Glomerulumkapillarschlingen zu keiner Zeit eindeutiges intravasal abgelagertes Fibrin gefunden. Lediglich bei ta Thrombin 128 Minuten (Versuch H 33) traten Spuren von Fibrin in den Glomerulumkapillaren auf. Die Befunde waren jedoch nicht eindeutig.
Eineinhalb und zwei Stunden nach dem Ende der Thrombininfusion (Versuch H 25, ta 100 Minuten und Versuch H 33, ta 128 Minuten) wurden einige homogen mit Fibrin verschlossene Kapillaren in der Nierenrinde gefunden. Staubartige, auf die Fibrinfärbung positiv ansprechende Niederschläge in den Kapillaren der Nierenrinde, die bereits bei ta Thrombin 60 Minuten auftreten, wurden als Artefakte angesehen.

Winzige Fibrinthromben traten bereits 20 Minuten nach Thrombin (Versuch H 31, ta Thrombin 19 Minuten) auf. Sie fanden sich in einigen wenigen kleinsten Arterien und Venen der Nierenrinde. Sie wurden auch noch 60 Minuten nach Thrombin (Versuch H 32, ta Thrombin 62 Minuten) gefunden. Im Kapillarbett dieser Nieren konnte kein Fibrin gesehen werden.

In größeren Gefäßen und im Bereich des Nierenmarks trat zu keiner Zeit Fibrin auf.

[+]ta : time after

Quantitative Auswertung

Alle Nierenpräparate wurden auch quantitativ nach der eingangs beschriebenen Methode ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 1 auf der folgenden Seite.

In dieser Tabelle sind die Versuche nach steigender Überlebenszeit nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin) geordnet. Die quantitativen Ergebnisse der Nierenhistologie können für jeden Versuch in der selben Zeile, getrennt nach teilweisem Verschluß der Glomerulumkapillaren durch Fibrinthromben (Kategorie "c") und vollständigem Verschluß (Kategorie "d") abgelesen werden. Von jedem Versuchstier wurden zwei Präparate ausgezählt. Die Ergebnisse sind untereinander angeordnet.

Die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate dieser Versuchsserie wurden auf Seite 80 graphisch dargestellt (Graphik 1).

Tabelle 1

Vers.	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der Dextran-Thrombin-Infusion	Fibrinpositive Glomerula in % d. ausgezählten Glomerula	
		Kategorie "c"	Kategorie "d"
H 35	16 Min.	0,5 %	0,0 %
		0,0 % +	0,0 % +
H 34	17 Min.	0,0 %	0,0 %
		0,0 % +	0,0 % +
H 31	19 Min.	0,0 %	0,0 %
		0,0 %	0,0 %
H 27	60 Min.	0,0 %	0,0 %
		0,0 %	0,0 %
H 30	62 Min.	0,0 %	0,0 %
		0,0 %	0,0 %
H 32	62 Min.	0,0 %	0,0 %
		0,0 %	0,0 %
H 29	64 Min.	0,0 %	0,0 %
		0,0 %	0,0 %
H 25	100 Min.	0,0 %	0,0 %
		0,0 %	0,0 %
H 33	128 Min.	1,4 %	0,0 %
		0,0 %	0,0 %

+ : Dieses Präparat wurde in 96 % Alkohol fixiert

b. Lunge

Fibrinthromben konnten im Kapillarbett der Lunge bei keinem Versuchstier gefunden werden. Lediglich zwei Stunden nach Thrombin (Versuch H 33, ta Thrombin 128 Minuten) traten in einigen Kapillaren fibrinähnliche Strukturen auf, doch konnte auch mit stärkster Vergrößerung keine fädige Feinstruktur an ihnen erkannt werden. Es wird angenommen, daß es sich dabei um Artefakte handelt.

Auch in größeren Lungengefäßen konnte zu keiner Zeit Fibrin nachgewiesen werden.

Einschränkend muß bemerkt werden, daß das massive Auftreten von rot gefärbten Erythrozyten die Befunderhebung stark beeinträchtigt hat.

c. Zusammenfassung

Bei der gewählten Versuchsanordnung war es zu keiner Zeit zwischen 20 und 128 Minuten nach dem Ende einer einstündigen Thrombininfusion möglich, Fibrinthromben in einem Ausmaß zu finden, wie es bei disseminierter intravasaler Gerinnung erwartet wird. Wurde Fibrin an einigen wenigen Stellen in der Nierenrinde gefunden, so handelte es sich dabei stets um Einzelbefunde, die nicht in Parallelversuchen reproduzierbar waren. Im Kapillarbett der Lungen konnten Fibrinthromben in einigen Fällen vermutet werden, ob es sich dabei aber tatsächlich um Fibrin handelt,konnte nicht festgestellt werden.

Thrombin - Infusion

Einzelversuche

Zu der vorstehend geschilderten Versuchsreihe gehören noch die Versuche H 26 und H 28. Sie wurden aus der Reihe ausgeklammert, da einige Komplikationen im Versuchsablauf einen Vergleich mit den anderen Versuchen verbieten. Ihr Ergebnis soll nur der Vollständigkeit halber aufgeführt werden.

Versuch H 26

1. Daten zum Versuch und Schilderung des Versuchsablaufs

Das Versuchstier wog 4,9 kg und war,schwanger, wie erst nach dem Ende des Versuchs festgestellt wurde. Das Tier verendete noch während der Thrombininfusion (Dosis 400 NIH Einheiten / kg Körpergewicht). Beim Zeitpunkt des Todes waren erst 65 % der geplanten Thrombin - Gesamtdosis infundiert worden. Der Blutverlust durch die Entnahme von Blutproben betrug 19 ml.

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen

a. Niere

In ganz geringem Umfang konnten bei dem Muttertier winzige Fibrinthromben in den Kapillaren der Nierenrinde gefunden werden. Von disseminierter intravasaler Gerinnung kann nicht gesprochen werden.

Dieses Ergebnis spiegelt sich auch bei der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate wieder : Nur bei einem der beiden ausgezählten Präparate wurden 1,3 % der Glomerula teilweise mit Fibrin verstopft (Kategorie "c") gefunden.

b. Lunge

In unmittelbarer Nachbarschaft zu pathologisch veränderten Organabschnitten finden sich in Kapillaren und größeren Gefäßen Strukturen, die auf Fibrin verdächtig sind. Bei den pathologischen Veränderungen handelt es sich um Gebiete mit starker kleinzelliger Infiltration. Ursache dafür könnten kleine, zellkernreiche, gelbgrün gefärbte Kugeln sein, die man für Parasiten, oder die Reaktion des Gewebes auf Parasiten halten kann.

Das übrige Lungengewebe des Muttertieres ist frei von Fibrin. Auch die Lungen eines der ungeborenen Feten zeigt an keiner Stelle Fibrinthromben.

Versuch H 28

1. Daten zum Versuch und Schilderung des Versuchsablaufs

Das Versuchstier wog 3,7 kg. Die Thrombindosis betrug 406 NIH Einheiten / kg Körpergewicht. Dem Kaninchen wurden 70 ml statt 60 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) infundiert. Die Infusionsdauer wurde um 23,5 Minuten, entsprechend einem Fehler von + 28 % überschritten. 87 Minuten nach dem Ende der Infusion wurde das Versuchstier getötet.

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen

a. Niere

In einigen Kapillaren der Nierenrinde sind kleinste Fibrinthromben zu finden. Auch in einigen Glomerulumkapillarschlingen tritt Fibrin auf, wie die quantitative Auswertung der Nierenpräparate zeigt. Bei einem der beiden ausgezählten Präparate sind 1,5 % der Glomerula teilweise mit Fibrin verschlossen (Kategorie "c").

In dem Präparat aus der anderen Niere sind je 0,7 % der ausgezählten Glomerula teilweise (Kategorie "c"), oder total (Kategorie "d") durch Fibrinthromben verschlossen.

Die Befunde sind zu unbedeutend, um von einer disseminierten intravasalen Gerinnung zu sprechen.

b. Lunge

Auch bei diesem Versuch steht das Ergebnis der Lungenhistologie noch hinter dem der Nieren zur ück. Es finden sich zwar wieder an einigen Stellen fibrinverdächtige Strukturen, doch ist es nicht möglich, sie eindeutig von rot gefärbten Erythrozyten abzugrenzen. Nur an einer Stelle lassen sich Fibrinfäden in einem kleinen langgest -kten Gefäß ausmachen.

Anhang

Bei einigen Organen aus der großen Versuchsserie H 25, H 27, H 29 - H 35 liegen auch Organe vor, die in 96 % Alkohol, statt in 5 % Formalin fixiert worden waren. Dabei zeigen sich bei der Alkoholfixation keine besseren Ergebnisse. Die Häufigkeit von Artefakten ist bei dieser Fixationsart dagegen größer.

Kombinierte Applikation
von
Thrombin und Trasylol

Versuchstyp " A "

In dieser Versuchsgruppe sind alle Versuche zusammengefaßt, die dazu dienten, eine geeignete Inhibitordosis (Trasylol) zu finden. Es wurden drei Versuche mit einer Inhibitor - Gesamtdosis von 100 000 KIE Trasylol pro Versuch, zwei Versuche mit je 200 000 KIE Trasylol und ein Versuch mit 300 000 KIE Trasylol gemacht.

1. Daten zu den Versuchen und Schilderung des Versuchsablaufs

Die Versuchstiere H 36, H 37 und H 38 wogen 3,3kg, 2,8 kg und 3,1 kg. Während des Versuches verloren die Tiere zwischen 30 ml und 55 ml Blut. Zum Ersatz wurden 60 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) infundiert, davon 45 ml als Träger von Thrombin in 60 Minuten.

Die Versuchstiere H 39 und H 40 wogen 2,1 kg und 2,8 kg. Der Blutverlust des Kaninchens H 39 betrug 64,5 ml. H 40 verlor 51 ml Blut. Auch bei diesen Versuchstieren wurde ersatzweise Flüssigkeitsvolumen zugeführt. Um die Auswirkungen von Dextran 60 (Macrodex 6 %) auf die Fibrinthrombenbildung in den Kapillaren von Nieren und Lungen zu studieren, wurde bei einem Versuch (H 39) statt der obligaten 60 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) dieselbe Menge physiologischer Kochsalzlösung als Blutersatz und Träger von Thrombin infundiert. (45 ml in 60 Minuten)

Das Versuchstier H 41 hatte ein Gewicht von 3,3 kg und verlor während des Versuches 60 ml Blut. Die 60ml Volumenersatz setzten sich wie folgt zusammen : 40 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) und 20 ml physiolo-

gische Kochsalzlösung. Davon wurden 25 ml Dextran 60 und 20 ml physiologische Kochsalzlösung innerhalb von 60 Minuten als Träger von Thrombin und dem Inhibitor (Trasylol) infundiert.

Thrombin :
Alle Versuchstiere bekamen die gleiche Dosis Thrombin von 400 NIH Einheiten / kg Körpergewicht.

Kallikrein - Trypsin - Inhibitor (Trasylol) :
Versuche H 36 - H 38 :
Jedem Versuchstier wurden 100 000 KIE Trasylol gespritzt, sobald 75 % der geplanten Thrombinmenge infundiert worden waren. Das war 43 +/- 1 Minuten nach Infusionsstart der Fall. Die Injektion dauerte 2,5 +/- 1 Minuten. Die Inhibitordosis schwankte durch das unterschiedliche Gewicht der Versuchstiere zwischen 30 000 KIE / kg und 35 000 KIE / kg Körpergewicht.

Versuche H 39 und H 40 :
Bei beiden Versuchen wurden je 200 000 KIE Trasylol gegeben. Es erhielt H 39 94 000 KIE / kg Körpergewicht und H 40 71 000 KIE / kg Körpergewicht. Von der Gesamtdosis wurden 100 000 KIE in 4 Minuten injiziert, sobald das Versuchstier 50 % seiner Thrombindosis erhalten hatte. Weitere 100 000 KIE wurden unmittelbar nach Abschluß der Thrombininfusion injiziert.

Versuch H 41 :
Die Trasylol - Gesamtdosis betrug 300 000 KIE, b.z.w. 91 000 KIE / kg Körpergewicht. Davon wurden 200 000 KIE parallel zur Thrombininfusion binnen 60 Minuten infundiert. Auf diesen Basisfluß von cirka 1 000 KIE Trasylol / kg / Min. wurden zweimal je 50 000 KIE Trasylol durch Injektion aufgesetzt: 44 Minuten nach Infusionsstart, entsprechend dem Zeitpunkt, bei dem 75 % der Thrombindosis appliziert waren, sowie 60 Minuten nach Infusionsstart, also sobald 100 % der Thrombindosis infundiert waren. Diese beiden Injektionen dauerten jeweils 1,5 Minuten.

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen der Versuchstiere H 36 - H 41

a. Niere

Bei diesen Vorversuchen wurde in den Glomerulumkapillaren der Nieren zum ersten Mal das Phänomen ausgedehnter intravasaler Gerinnung beobachtet. Dabei zeigten die Versuchstiere, die nur 100 000 KIE Trasylol bekommen hatten wesentlich schlechtere Ergebnisse, als die, bei denen 200 000 KIE und 300 000 KIE Trasylol gegeben wurden. Trotz des unterschiedlichen Versuchstyps unterscheiden sich die Versuche,mit 200 000 KIE im histologischen Bild nur wenig von den Versuchen mit 300 000 KIE Trasylol. Das ist wohl darin begründet, daß es in diesem Fall weniger auf die Applikationsart von Trasylol ankommt, vielmehr wurde bei beiden Versuchsvarianten annähernd die gleiche Inhibitordosis pro Kilogramm Körpergewicht verabreicht. Die kritische Trasyloldosis pro Kilogramm Körpergewicht liegt demnach wahrscheinlich zwischen 35 000 KIE / kg und 70 000 KIE / kg, um bei gleichzeitiger Thrombininfusion histologisch nachweisbare Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren der Nieren in größerer Zahl zu erzeugen.

Außerdem zeigte sich bei diesen Experimenten, daß die Infusion des Plasmaexpanders Dextran 60 (Macrodex 6 %) keinen Einfluß auf das Ausmaß der nach kombinierter Applikation von Thrombin und Trasylol zu erwartenden Fibrinthrombenbildung hat. Thrombozytenaggregate und Kapillarverödungen durch die Infusion von Dextran wurden bei den von uns verwendeten Dextranmengen nicht beobachtet.

Im übrigen Kapillarbett der Nieren wurde nur selten Fibrin gefunden. Die intertubulären Kapillaren des Nierenmarks sind stets frei von Fibrin.

Größere Gefäße zeigen ebenfalls keine Fibringerinnsel.

Quantitative Auswertung

Alle Nierenpräparate wurden auch quantitativ nach der eingangs beschriebenen Methode ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 2 auf der folgenden Seite.

In dieser Tabelle sind die Versuche nach steigender Überlebenszeit nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin) und dem Ende der Inhibitorapplikation (ta Trasylol) geordnet.
Die quantitativen Ergebnisse der Nierenhistologie können für jeden Versuch in der selben Zeile, getrennt nach teilweisem Verschluß der Glomerulumkapillaren durch Fibrinthromben (Kategorie "c") und vollständigem Verschluß (Kategorie "d") abgelesen werden.
Von jedem Versuchstier wurden zwei Präparate ausgezählt. Die Ergebnisse sind untereinander angeordnet.

Von einer graphischen Darstellung der Versuchsergebnisse wurde bei diesem Versuchstyp abgesehen, da die Ergebnisse der Einzelversuche nur sehr schlecht miteinander verglichen werden können.

Tabelle 2

Vers.	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der letzten Trasylol-Injektion	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der Dextran-Thrombin-Infusion	Fibrinpositive Glomerula in % d. ausgezählten Glomerula Kategorie "c"	Kategorie "d"
H 36	62 Min.	47 Min.	1,6 %	4,2 %
			0,0 % +	0,0 % +
H 37	76 Min.	61 Min.	0,0 %	2,0 %
			2,4 % +	0,0 % +
H 38	76 Min.	63 Min.	2,3 %	1,0 %
			7,2 % +	0,0 % +
H 40	57 Min.	60 Min.	1,7 %	41,5 %
			1,2 % +	1,9 % +
H 39++	119 Min.	123 Min.	4,2 %	77,6 %
			2,9 % +	57,7 % +
H 41	58 Min.	60 Min.	0,0 %	67,0 %
			5,0 % +	8,6 % +

+ : Dieses Präparat wurde in 96 % Alkohol fixiert

++ : Diesem Tier wurde physiologische Kochsalzlösung statt Dextran 60 (Macrodex 6 %) infundiert.

b. Lunge

Im Kapillarbett der Lunge konnten wesentlich weniger Fibringerinnsel gefunden werden, als in den vergleichbaren Nieren. In keiner Lunge kam es zum Bild der disseminierten intravasalen Gerinnung.

c. Zusammenfassung

Bei den Testversuchen, die dazu dienten, eine geeignete Trasylol-dosis zu finden, um die Wirkung des Inhibitors auf die Fibrinolyse auch im histologischen Bild erfassen zu können, konnte folgendes festgestellt werden :
Die Inhibitordosis muß größer als 35 000 KIE Trasylol / kg Körpergewicht sein. Dann kann bei gleichzeitiger Thrombinapplikation mit massivem Auftreten von Fibringerinnseln in der Mikrostrombahn der Niere gerechnet werden. So wurden in einem Fall bis zu 77,6 % der ausgezählten Glomerula vollkommen mit Fibrinthromben verschlossen gefunden. Im Vordergrund steht der Befall der Glomerulumkapillaren. Die übrige Mikrostrombahn der Niere, besonders im Bereich des Nierenmarks, und die Kapillaren der Lungen sind relativ frei von Fibrin. In größeren Gefäßen konnte Fibrin zu keiner Zeit gefunden werden.

Anhang

Die in 96 % Alkohol fixierten Präparate zeigten keine so guten Ergebnisse, wie die Vergleichspräparate, die in 5 % Formalin fixiert wurden. Außerdem neigten sie eher dazu, falsch positive Fibrinfärbung, besonders im Bereich der Organränder, zu zeigen.

Versuchstyp " B "

Applikation des Inhibitors (Trasylol) vor der Thrombininfusion

Versuche H 65 - H 68, T 7 - T 9

1. Daten zu den Versuchen und Schilderung des Versuchsablaufs

Die weiblichen Versuchstiere waren zwischen 3,1 kg und 3,8 kg schwer.

Während der Versuche verloren die Kaninchen zwischen 44 ml und 75 ml Blut durch die Entnahme von Blutproben. Dieser Blutverlust wurde durch die Infusion von Dextran 60 (Macrodex 6 %) und physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen.

Thrombin :
Den Versuchstieren H 65 - H 68 wurden 400 NIH Einheiten Thrombin pro Kilogramm Körpergewicht, gelöst in 60 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) in einem Zeitraum von 60 Minuten infundiert.

Die Tiere T 7 - T 9 erhielten 60 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) o h n e Thrombin.

Kallikrein - Trypsin - Inhibitor (Trasylol) :
500 000 KIE Trasylol wurden vor der Infusion des Thrombin gespritzt. Die Injektion dauerte 5 Minuten. Die Inhibitordosis / kg Körpergewicht betrug 130 000 - 160 000 KIE Trasylol / kg Körpergewicht.

Bei den Versuchen H 65 - H 68 begann die 60 Minuten dauernde Thrombininfusion 19 - 27 Minuten nach dem Ende der Trasylolinjektion.

Folgende Zeitabschnitte wurden konstant gehalten :

1. Die Dauer der Trasylolinjektion. (5 Minuten)
2. Der Abstand zwischen dem Ende der Inhibitorinjektion und dem Beginn der Thrombin- / Dextran 60 - Infusion. (23 Minuten, +/- 4 Minuten Abweichung durch technische Schwierigkeiten bei Beginn der Infusion)
3. Die Dauer der Thrombin- / Dextran 60 - Infusion, b.z.w. der alleinigen Dextran 60 - Infusion. (60 Minuten)

Nach Infusionsende wurden die Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten getötet. Die histologischen Präparate erfassen den Zeitraum zwischen 10 und 60 Minuten nach dem Ende der Thrombin- / Dextran 60 - Infusion (ta Thrombin). Das entspricht einem Zeitraum von 90 - 150 Minuten nach dem Ende der Inhibitorinjektion (ta Trasylol).

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen der Versuchstiere H 65 - H 68, T 7 - T 9

a. Niere

Im Vergleich zu anderen Versuchsreihen wurde in den Nierenpräparaten aus dieser Versuchserie das meiste Fibrin gefunden. Bereits 8 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion sind 3/4 aller Glomerulumkapillaren beider Nieren eines Versuchstieres durch Fibrinthromben total verlegt (Versuch H 67, ta Thrombin 8 Minuten). Der Abstand zur Inhibitorinjektion beträgt in diesem Fall bereits eineinhalb Stunden (Versuch H 67, ta Trasylol 92 Minuten). Die zahlreichen intrakapillären Thromben in den Glomerulumschlingen lassen sich die ganze folgende Stunde nachweisen. Am Ende dieser Stunde erreicht die disseminierte intravasale Gerinnug ihren Höhepunkt : fast alle Glomerulumkapillaren sind total mit Fibrin verstopft. Die Trasylolinjektion liegt hierbei schon zweieinhalb Stunden zur ück.(Versuch H 68, ta Thrombin 62 Minuten / ta Trasylol 142 Minuten.).

Länger dauernde Versuche wurden nicht gemacht.
Die Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren zeigen deutlich fädige Struktur. Gleichzeitig kommt es zu degenerativen Erscheinungen an der Kapillarwand. Sie ist stark verbreitert, die Kapillarlumina sind, sofern sie nicht mit Fibrin verstopft sind, stark eingeengt. Erythrozyten sind kaum zu finden. Die Schwellung der Kapillarwände führt zu einer allgemeinen Vergrößerung des Glomerulums, sodaß der Harnteil der Bowmanschen Kapsel auf einen schmalen Saum eingeengt wird. (Abb.5) Bei einigen Glomerula sieht man, daß auch die Vasa afferentia und efferentia mit Fibrinthromben verschlossen sind. (Abb. 3) Auch bei nur teilweise mit Fibrin verschlossenen Glomerulumschlingen treten die oben beschriebenen Veränderungen an der Kapillarwand auf. Es wird vermutet, daß der massive thrombotische Verschluß in diesen Fällen bereits im zuführenden Gefäß liegt, ohne histologisch nachweisbar zu sein. (Abb. 4)

In sämtlichen Nierenpräparaten aus dieser Versuchsreihe findet man auch in den übrigen intertubulären Kapillaren, vor allem in der Nierenrinde, Fibrinthromben. (Abb. 1) Sie haben in dem von unseren Experimenten erfaßten Zeitraum zu keinen Veränderungen an den anliegenden Tubulusepithelien geführt.

Größere Gefäße blieben stets frei von Fibrin.

Bei den thrombinfreien Vergleichsversuchen T 7 - T 9 konnte in keinem Präparat Fibrin gefunden werden. Auch die Glomerulumkapillarschlingen lassen keine pathologischen Veränderungen erkennen. Die Glomerula sind normal groß, die Kapillarwände sind nicht verbreitert, die Kapillarlumina normal weit. (Abb. 6, Abb. 7)

Quantitative Auswertung

Alle Nierenpräparate wurden auch quantitativ nach der eingangs beschriebenen Methode ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 3 auf der folgenden Seite.

In dieser Tabelle sind die Versuche nach steigender Überlebenszeit nach dem Ende der Trasylolinjektion (ta Trasylol) und dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin) geordnet.
Die quantitativen Ergebnisse der Nierenhistologie können für jeden Versuch in der selben Zeile, getrennt nach teilweisem Verschluß der Glomerulumkapillaren durch Fibrinthromben (Kategorie "c") und vollständigem Verschluß (Kategorie "d") abgelesen werden. Von jedem Versuchstier wurden zwei Präparate ausgezählt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle untereinander angeordnet.

Die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate dieser Versuchsserie wurden auf Seite 81 graphisch dargestellt. (Graphik 2)

Tabelle 3

Vers.	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der			Fibrinpositive Glomerula in % d. ausgezählten Glomerula	
	Trasylol-Injektion	Dextran-Thrombin-Infusion	Dextran-Infusion	Kategorie "c"	Kategorie "d"
H 67	92 Min.	08 Min.		9,6 %	74,8 %
				5,1 %	84,6 %
T 08	90 Min.		11 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
H 65	111 Min.	24 Min.		10,0 %	71,4 %
				2,8 %	32,0 %
T 09	108 Min.		29 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
H 66	119 Min.	40 Min.		7,7 %	76,6 %
				2,8 %	88,6 %
H 68	142 Min.	62 Min.		1,7 %	96,2 %
				2,6 %	92,1 %
T 07	146 Min.		67 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %

b. Lunge

Nur bei zwei Versuchstieren konnte auch in den Lungen Fibrin gefunden werden (Versuch H 65, ta Thrombin 24 Minuten / ta Trasylol 111 Minuten, Versuch H 66, ta Thrombin 40 Minuten / ta Trasylol 119 Minuten). Die Fibrinthromben treten nur sehr vereinzelt in den Kapillaren auf. Diese durch Fibrin verlegten Kapillaren finden sich stets in gröber veränderten Organabschnitten, nie in den normalen schmalen Alveolarsepten. Meistens handelt es sich dabei um verbreiterte Alveolarwände (Abb. 8). Diese verbreiterten Alveolarsepten treten aber auch in anderen Organabschnitten ohne fibrinverlegte Kapillaren auf, sowie in fibrinfreien Versuchen (Leerversuch, Versuche ohne Thrombin). Somit scheidet das Fibringerinnsel als Ursache für die Verbreiterung der Alveolarsepten aus. Vielleicht handelt es sich dabei um Organpartien, in deren Kapillarbett ungünstige hämodynamische Verhältnisse die Bildung von Fibrinthromben bei gleichzeitiger Applikation von Thrombin und Trasylol begünstigen.

In größeren Lungengefäßen konnte an keiner Stelle Fibrin gefunden werden.

c. Zusammenfassung

Bei dem im Versuchstyp " B " gewählten Versuchsablauf läßt sich bei kombinierter Applikation von Thrombin und Trasylol im Kapillarbett sämtlicher Nieren das Bild der massiven, disseminierten intravasalen Gerinnung erzeugen. Dabei werden bevorzugt die Glomerulumkapillaren, weniger häufig die intertubulären Kapillaren der Nierenrinde, selten die intertubulären Kapillaren im Nierenmark befallen. Zu pathologischen, sekundären Veränderungen kommt es dabei nur im Bereich der Glomerula in Form einer allgemeinen Größenzunahme und Verbreiterung der Kapillarwände. Nekrosen konnten im beobachteten Zeitraum nicht festgestellt werden.

In den entsprechenden Lungenpräparaten konnte nur spärlich Fibrin gefunden werden. Es tritt dort 15 Minuten später als in der Niere auf. Die Gerinnsel sind in der Lunge nur 15 Minuten lang nachweisbar, im Gegensatz zur Niere, wo sie ungefähr eine Stunde lang (54 Minuten) zu finden sind. 62 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion, entsprechend 142 Minuten nach der Trasylolinjektion können in den Nieren die massivsten Befunde erhoben werden, dagegen zeigen die Lungen zu diesem Zeitpunkt bereits nichts mehr.

In den thrombinfreien Parallelversuchen konnten weder in den Nieren noch in den Lungen Fibringerinnsel nachgewiesen werden.

Versuchstyp " C "

Applikation des Inhibitors (Trasylol) vor, während und nach der Thrombininfusion

Versuche H 42, H 43, H 63, H 64 und T 10, T 11

1. Daten zu den Versuchen und Schilderung des Versuchsablaufs

Die weiblichen Versuchstiere wogen 3,1 +/- 0,7 kg.

Während der Versuche verloren die Kaninchen zwischen 28 ml und 84 ml Blut durch die Entnahme von Blutproben. Der Blutverlust wurde durch die Infusion von Dextran 60 (Macrodex 6 %) und physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen.

Thrombin :
Die Thrombindosis für die Versuchstiere H 42, H 43, H 63 und H 64 betrug 400 NIH Einheiten Thrombin pro Kilogramm Körpergewicht.

Bei den Versuchen T 10 und T 11 wurde k e i n Thrombin gegeben.

Kallikrein - Trypsin - Inhibitor (Trasylol) :
Die Trasylol - Gesamtdosis belief sich für jedes Versuchstier auf 500 000 KIE Trasylol. Die Dosis pro Kilogramm Körpergewicht schwankte zwischen 130 000 KIE Trasylol / kg und 200 000 KIE Trasylol / kg.

Zusammensetzung der Infusionslösung :
Im Infusionsbesteck (Schlauch + Tropfenfänger) befanden sich 15 ml physiologische Kochsalzlösung mit 150 000 KIE Trasylol. Die Infusionsflasche enthielt weitere 5 ml physiologische Kochsalzlösung mit insgesamt 50 000 KIE Trasylol und 40 ml Plasmaexpander Dextran 60 (Macrodex 6 %). In diesen 45 ml Flüssigkeit war die Thrombindosis gelöst.
In der Infusionslösung für die Versuche T 10 und T 11 befand sich kein Thrombin.

Versuchsablauf :
Die Versuchstiere bekamen eine initiale Dosis von 150 000 KIE Trasylol mit einer Geschwindigkeit von 5 500 KIE / Min. / kg Körpergewicht (Abweichung +/- 3 500 KIE / Min. / kg) infundiert. Diese Infusion dauerte mindestens 5, maximal 22 Minuten. Der Initialdosis folgte gleichzeitig mit der Thrombininfusion eine Erhaltungsdosis von 50 000 KIE Trasylol. Diese kombinierte Thrombin- / Trasylolinfusion dauerte 60 Minuten. Berücksichtigt man, daß die Infusion zweimal unterbrochen wurde, - zur Injektion weiterer Inhibitoreinheiten und zur Entnahme einer Blutprobe, so ergibt sich eine effektive Infusionsdauer von 50 Minuten. Somit betrug die Trasylol - Erhaltungsdosis 1 000 KIE / Min., oder ungefähr 300 KIE / Min. / kg Körpergewicht.
Hatte das Versuchstier 50 %, 75 % und 100 % seiner Thrombindosis infundiert bekommen, wurden jeweils weitere 100 000 KIE Trasylol injiziert. Die Injektionen dauerten je 2 +/- 1 Minuten. Die Injektionen begannen 28 +/- 2 Minuten, 45,5 +/- 1,5 Minuten und 60 Minuten nach dem Start der kombinierten Thrombin- / Trasylolinfusion.

Nach Infusionsende wurden die Kaninchen zu verschiedenen Zeitpunkten getötet. Die histologischen Präparate erfassen den Zeitraum zwischen 20 und 120 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin 20 - 121 Minuten). Das entspricht einem zeitlichen Abstand vom Ende der letzten Inhibitorgabe von 18 bis 118 Minuten (ta Trasylol 18 - 118 Minuten).

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen der Versuchstiere H 42, H 43, H 63, H 64 und T 10, T 11

a. Niere

In den Nieren aller Versuchstiere, bei denen Thrombin mit Trasylol kombiniert gegeben wurde, läßt sich Fibrin in der Mikrostrombahn nachweisen. Im Vordergrund steht wieder der Befall der Glomerulumkapillaren. Hier lassen sich die meisten Thromben 20 Minuten nach Thrombin, entsprechend 18 Minuten nach der letzten Trasylolinjektion nachweisen (Versuch H 64, ta Thrombin 20 Minuten / ta Trasylol 18 Minuten). Innerhalb der folgenden 100 Minuten sind in den Glomerulumkapillaren Fibrinthromben nur noch sehr spärlich zu finden. Totale Verschlüsse einer ganzen Kapillarschlinge sind sehr selten zu sehen. Erst zwei Stunden nach Infusionsende nimmt der Fibrinbefall wieder leicht zu, erreicht aber nicht das Ausmaß, wie 100 Minuten vorher. Die morphologischen Veränderungen an den Kapillarschlingen der Glomerula entsprechen denen, die bereits bei Versuchstyp " B " beobachtet und beschrieben wurden (vgl. Seite 42).

Zu den Zeitpunkten, bei denen die Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren besonders häufig auftreten, lassen sie sich auch leichter in den intertubulären Kapillaren finden (Versuch H 64, ta Thrombin 20 Minuten / ta Trasylol 18 Minuten; Versuch H 43, ta Thrombin 121 Minuten / ta Trasylol 118 Minuten). Bevorzugt sind die Kapillaren der Nierenrinde befallen, seltener die des Marks. In den Glomerulumkapillaren bleiben die Fibringerinnsel zwei Stunden lang nachweisbar, in den übrigen Kapillaren treten sie nur in der ersten halben Stunde und zwei Stunden nach Thrombin und Trasylol auf.
An den Tubulusepithelien konnten keine Veränderungen bemerkt werden.

Die größeren Gefäße waren stets frei von Fibrin.

Die Nieren der thrombinfreien Vergleichsversuche zeigen keinerlei Fibrinhtrombenbildung in ihrer Mikrostrombahn.

Quantitative Auswertung

Alle Nierenpräparate wurden auch quantitativ nach der eingangs beschriebenen Methode ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 4 auf der folgenden Seite.

In dieser Tabelle sind die Versuche nach steigender Überlebenszeit nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin) und dem Ende der letzten Trasylolinjektion (ta Trasylol) geordnet.
Die quantitativen Ergebnisse der Nierenhistologie können für jeden Versuch in der selben Zeile, getrennt nach teilweisem Verschluß der Glomerulumkapillaren durch Fibrinthromben (Kategorie "c") und vollständigem Verschluß (Kategorie "d") abgelesen werden.
Von jedem Versuchstier wurden zwei Nierenpräparate ausgezählt.
Die Ergebnisse sind in der Tabelle untereinander angeordnet.

Die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate dieser Versuchsserie wurden auf Seite 82 graphisch dargestellt.
(Graphik 3)

Tabelle 4

Vers.	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der letzten Trasylol-Injektion	Dextran-Thrombin-Infusion	Dextran-Infusion	Fibrinpositive Glomerula in % d. ausgezählten Glomerula Kategorie "c"	Kategorie "d"
T 11	03 Min.		05 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
H 64	18 Min.	20 Min.		8,4 %	65,1 %
				7,7 %	13,0 %
T 10	27 Min.		29 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
H 63	27 Min.	30 Min.		3,2 %	0,8 %
				13,5 %	4,1 %
H 42	59 Min.	63 Min.		6,5 %	2,2 %
				3,2 % +	15,0 % +
H 43	118 Min.	121 Min.		12,1 %	23,2 %
				8,5 % +	0,6 % +

+ : Dieses Präparat wurde in 96 % Alkohol fixiert

b. Lunge

Im Kapillarbett der Lunge lassen sich Fibrinthromben bei allen Versuchstieren, die Thrombin und Trasylol bekommen hatten, nachweisen. In seinem Ausmaß geht der Fibrinbefall der Lungenkapillaren in etwa mit dem Befall der intertubulären Kapillaren der Nierenrinde parallel. 20 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion, entsprechend 18 Minuten nach dem Ende der letzten Trasylolinjektion findet man die meisten Fibrinthromben (Versuch H 64, ta Thrombin 20 Minuten / ta Trasylol 20 Minuten). (Abb. 9)
Während der folgenden 100 Minuten treten die Fibringerinnsel in der Lunge wesentlich spärlicher auf. Erst zwei Stunden nach Thrombin findet man sie wieder häufiger (Versuch H 43, ta Thrombin 121 Minuten / ta Trasylol 118 Minuten).
Auch diese Versuche ergaben, daß Fibrinthromben im Kapillarbett der Lunge am ehesten in etwas verbreiterten Alveolarsepten auftreten.

In größeren Lungengefäßen konnte kein Fibrin gefunden werden.

In den Lungen der thrombinfreien Versuchstiere T 10 und T 11 traten keine Fibringerinnsel auf.

c. Zusammenfassung

Bei dem im Versuchstyp " C " gewählten Versuchsablauf konnte bei den Kaninchen, denen Thrombin und Trasylol appliziert worden war, Fibrin im Kapillarbett von Nieren und Lungen gefunden werden. Beobachtet wurde der Zeitraum von 20 Minuten bis 120 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion und der Trasylolapplikation. Zu Beginn und am Ende dieses Zeitraums konnte eine geringe Steigerung der Zahl der Fibringerinnsel festgestellt werden. Im Vordergrund steht der Befall der Glomerulumkapillarschlingen. Im übrigen Kapillarbett der Nieren und Lungen treten die Thromben seltener auf.

In der Lunge spielen offenbar lokale, hämodynamisch ungünstige Faktoren bei der Thrombusbildung eine entscheidende Rolle.

In der Niere konnte an morphologischen Veränderungen nur eine Größenzunahme der fibrinverstopften Glomerula, und eine Verbreiterung der Wände der entsprechenden Kapillarschlingen festgestellt werden.

Die Mikrostrombahn von Nieren und Lungen der Vergleichstiere, die nur Trasylol, kein Thrombin infundiert bekommen hatten, war stets frei von Fibrin. Ein Vergleichsversuch, der entsprechend dem Hauptversuch (H 43) zwei Stunden überlebt hätte, wurde nicht gemacht. Die Erfahrung mit anderen thrombinfreien Vergleichstieren zeigt aber, daß bei alleiniger Trasylolapplikation zu keiner Zeit mit dem Auftreten von Fibrinthromben zu rechnen ist.

Anhang

Bei zwei Versuchen (H 42, H 43) liegen auch Präparate vor, die in 96 % Alkohol, statt in 5 % Formalin fixiert wurden. Nur in einem Fall (Niere H 42) zeigt das alkoholfixierte Präparat ein besseres Ergebnis, als das formalinfixierte. Bei allen anderen Präparaten ist die Alkoholfixation der Formalinfixation unterlegen und zeigt häufiger färberische Artefakte.

Versuchstyp " D "

Applikation des Inhibitors (Trasylol) während
und nach der Thrombininfusion

Versuche H 44 - H 46, H 60 - H 62,
T 4 - T 6

1. Daten zu den Versuchen und Schilderung des Versuchsablaufs

Die weiblichen Versuchstiere H 45, H 46 und H 60 waren 3,2 +/- 0,6 kg schwer. Die Kontrolltiere wogen 3,1 +/- 0,5 kg. Die Versuchstiere H 44, H 61, H 62 hatten ein Gewicht von 3,7 +/- 0,3 kg.

Während der Versuche verloren die Kaninchen zwischen 30 ml und 93 ml Blut durch die Entnahme von Blutproben. Der Blutverlust wurde durch die Infusion von Dextran 60 (Macrodex 6 %) und physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen.

Thrombin :
Die Thrombindosis für die Versuchstiere H 44 - H 46 und H 60 - H 62 betrug 400 NIH Einheiten Thrombin pro Kilogramm Körpergewicht.

Bei den Versuchen T 4 - T 6 wurde k e i n Thrombin gegeben.

Kallikrein - Trypsin - Inhibitor (Trasylol) :
Die Trasylol - Gesamtdosis belief sich für jedes Versuchstier auf 500 000 KIE Trasylol. Die Inhibitordosis pro Kilogramm Körpergewicht schwankte zwischen 125 000 KIE Trasylol / kg und 190 000 KIE Trasylol / kg Körpergewicht.

Versuchsablauf :

In einem Zeitraum von 60 Minuten wurde dem Versuchstier die Thrombindosis von 400 NIH Einheiten / kg Körpergewicht, gelöst in 45 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) infundiert. Die Vergleichstiere T 4 - T 6 erhielten Dextran 60 (Macrodex 6 %) ohne Thrombin. Sobald das Kaninchen 75 % seiner Gesamtdosis Thrombin infundiert bekommen hatte, wurden ihm 200 000 KIE Trasylol 4 Minuten lang gespritzt (Dosis / Minute : 50 000 KIE / Min.). Der Beginn dieser Injektion lag bei 45 +/- 3 Minuten nach Infusionsstart. Anschließend wurden die restlichen 25 % der Thrombindosis infundiert. Mit einer maximalen Verzögerung von 3 Minuten folgte auf das Thrombin die Infusion weiterer 300 000 KIE Trasylol. Sie dauerte 15 +/- 3 Minuten. Die Infusionsgeschwindigkeit betrug im Schnitt 6 500 KIE / Minute. Sie schwankte um +/- 2 500 KIE / Minute, da die Infusion ungleichmäßig schnell lief.

Folgende Zeitabschnitte wurden während des Versuchs konstant gehalten :

1. Die Infusionszeit für Thrombin / Dextran 60 (60 Minuten).
2. Die Injektion von 200 000 KIE Trasylol (Beginn: 45 +/- 3 Minuten nach Infusionsstart, Dauer: 3,5 +/- 0,5 Minuten).
3. Die Infusion von 300 000 KIE Trasylol (Beginn: unmittelbar nach Abschluß der Thrombininfusion, maximale Verzögerung: + 3 Minuten, Dauer: 15 +/- 3 Minuten).

Nach Infusionsende wurden die Versuchstiere zu verschiedenen Zeitpunkten getötet. Die histologischen Präparate erfassen den Zeitraum zwischen 20 und 185 Minuten nach dem Ende der Thrombin- / Dextran 60-Infusion (ta Thrombin). Das entspricht einem zeitlichen Abstand vom Ende der Trasylolinfusion von 7 - 171 Minuten (ta Trasylol 7 - 171 Minuten).

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Nieren und Lungen der Versuchstiere H 44 - H 46, H 60 - H 62 und T 4 - T 6

a. Niere

In den Glomerulumkapillaren der Nieren von Versuchstieren, die Thrombin und Trasylol bekommen hatten läßt sich Fibrin bis zu drei Stunden nach Thrombin, entsprechend knapp drei Stunden nach dem Ende der Trasylolinfusion nachweisen (Versuch H 46, ta Thrombin 185 Minuten / ta Trasylol 171 Minuten). Bereits 7 Minuten nach dem Ende der Trasylolinfusion, 20 Minuten nach Thrombin, sieht man in den Glomerulumkapillaren verstreut Fibrinthromben (Versuch H 62, ta Thrombin 20 Minuten / ta Trasylol 7 Minuten). Nach einer Stunde erreicht die Thrombusbildung in den Glomerulumkapillaren ihren Höhepunkt. (Versuch H 60, ta Thrombin 60 Minuten / ta Trasylol 45 Minuten). Innerhalb der folgenden zwei Stunden geht die Häufigkeit von Fibringerinnseln in den Kapillarschlingen wieder zurück. Es ist gleichgültig, ob eine Glomerulumschlinge bereits nach 7 Minuten, oder erst nach 3 Stunden mit Fibrin verstopft gefunden wird, - an der Morphologie des Glomerulums läßt sich kein Unterschied feststellen. Hier wie dort kommt es zu dem eintönigen, an anderer Stelle schon beschriebenen Bild der verquollenen Kapillarwände und der Vergrößerung der gesamten Kapillarschlinge (vgl. Seite 42 , Versuchstyp " B "). Nekrosen, mit Hyalinisierung des gesamten Glomerulums werden auch nach drei Stunden noch nicht beobachtet.

In der ersten Stunde nach dem Ende der Thrombininfusion ist Fibrin in den übrigen, intertubulär gelegenen Kapillaren der Nierenrinde nur ganz spärlich und vereinzelt zu finden. Dies trifft sogar für den Zeitpunkt zu, bei dem in den Glomerulumkapillaren das meiste Fibrin auftritt. Erst zwei Stunden nach Thrombin sieht man häufiger intertubuläre Kapillaren, die mit Fibrinthromben verlegt sind (Versuch H 44, ta Thrombin 122 Minuten / ta Trasylol 108 Minuten). Allerdings finden sich die Kapillarverschlüsse nur im Bereich der Nierenrinde. Im Mark lassen sie sich nie nachweisen.

In den Kapillaren der Nierenrinde bleiben die Fibringerinnsel bis zu drei Stunden nach Thrombin und Trasylol nachweisbar. Länger dauernde Versuche wurden nicht gemacht.

In größeren Nierengefäßen wurden keine Fibrinthromben gefunden.

Die Nieren der Vergleichstiere T 4 - T 6 blieben stets ohne Befund.

Quantitative Auswertung

Alle Nierenpräparate wurden auch quantitativ nach der eingangs beschriebenen Methode ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 5 auf der folgenden Seite.

In dieser Tabelle sind die Versuche nach steigender Überlebenszeit nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin) und dem Ende der Trasylolinfusion (ta Trasylol) geordnet.
Die quantitativen Ergebnisse können für jeden Versuch in der selben Zeile, getrennt nach teilweisem Verschluß der Glomerulumkapillaren durch Fibrinthromben (Kategorie "c") und vollständigem Verschluß (Kategorie "d") abgelesen werden. Von jedem Versuchstier wurden möglichst zwei Nierenpräparate ausgezählt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle untereinander angeordnet.

Die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate dieser Versuchsserie wurden auf Seite 83 graphisch dargestellt. (Graphik 4)

Tabelle 5

Vers.	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der			Fibrinpositive Glomerula in % d. ausgezählten Glomerula	
	Trasylol-Infusion	Dextran-Thrombin-Infusion	Dextran-Infusion	Kategorie "c"	Kategorie "d"
H 62	07 Min.	20 Min.		2,7 %	6,3 %
				1,8 %	5,4 %
H 61	19 Min.	36 Min.		12,0 %	10,1 %
				2,3 % +	1,2 % +
H 60	45 Min.	63 Min.		2,4 %	85,5 %
				1,7 %	81,5 %
T 06	49 Min.		61 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
T 05	106 Min.		120 Min.	0,7 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
H 44	108 Min.	122 Min.		11,1 %	13,1 %
H 45	106 Min.	125 Min.		7,9 %	40,8 %
				13,0 %	34,0 %
H 46	171 Min.	185 Min.		11,5 %	20,0 %
T 04	172 Min.		186 Min.	0,6 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %

+ : schwach gefärbtes Präparat

b. Lunge

Nur bei einem Versuchstier sind einige kleinste Fibrinthromben im Kapillarbett der Lungen nachweisbar (Versuch H 44, ta Thrombin 122 Minuten / ta Trasylol 108 Minuten). Dieser Befund geht parallel mit dem Auftreten von Fibringerinnseln in den intertubulären Kapillaren der Nierenrinde des gleichen Versuchstieres. Zu keiner anderen Zeit sind Fibrinthromben in den Lungen zu finden.

Auch die übrigen Lungengefäße größeren Kallibers sind bei allen Versuchstieren frei von Fibrinthromben.

In den Lungen der Kaninchen aus thrombinfreien Vergleichsversuchen ist in der Regel kein Fibrin nachzuweisen. Nur bei einem Versuchstier tritt an einer Stelle im Lungengewebe ein kleines Gerinnselgeflecht auf.(Versuch T 4, entspricht Hauptversuch H 46, ta Trasylol 172 Minuten). Ob es sich dabei um Fibrin, oder um ein Artefakt handelt,konnte nicht eindeutig entschieden werden. (Abb. 12)

c. Zusammenfassung

Bei dem im Versuchstyp " D " gewählten Versuchsablauf können Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren sämtlicher Versuchstiere während drei Stunden nach Infusionsende nachgewiesen werden. Die Zahl der verschließenden Thromben nimmt innerhalb der ersten Stunde zu und erreicht ihren Höhepunkt 63 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion, 45 Minuten nach Abschluß der Trasylolinfusion. Zu diesem Zeitpunkt zeigen die Nieren das histologische Bild massiver disseminierter intravasaler Gerinnung. Danach nimmt die Häufigkeit der Fibringerinnsel wieder ab, jedoch sind am Ende des histologisch erfaßten Zeitraums immer noch 1/5 aller Glomerulumkapillaren durch Fibrinthromben verlegt. Die morphologischen Veränderungen an den befallenen Glomerula, bedingt durch den Fibrinthrombus, sind zu

allen Zeiten die gleichen. Nekrosen wurden keine entdeckt. Im übrigen Kapillarbett der Nieren bilden sich Fibrinthromben erst zwei Stunden nach Thrombin und Trasylol. Zur gleichen Zeit treten auch im Kapillarbett der Lungen kleinste Fibrinthromben auf. Die Gerinnsel sind in der Nierenrinde eine Stunde lang nachweisbar, in der Lunge verschwinden sie sehr schnell wieder. Bei den thrombinfreien Vergleichsversuchen können in der Regel keine Fibrinthromben in der Mikrostrombahn gefunden werden. Nur in der Lunge eines Kaninchens tritt ein winziges fädiges Geflecht auf, das nicht eindeutig als Fibrin zu identifizieren ist. (Abb. 12)

Anhang

Bei einem Versuch (H 45) liegen auch Präparate vor, die in 96 % Alkohol, statt in 5 % Formalin fixiert wurden. Bei dieser Art der Fixierung sind lediglich 0,7 % und 3,3 % der ausgezählten Glomerula in die Kategorie "c" einzuordnen, 2,0 % und 16,5 % in die Kategorie "d". Die in Formalin fixierten Parallelpräparate zeigen dagegen in der Kategorie "d" 40,8 % und 34,0 %. Die Alkoholfixation ist auch in diesem Fall der Formalinfixation unterlegen. Außerdem neigt sie eher zur Darstellung von Artefakten.

Versuchstyp " E "

Applikation des Inhibitors (Trasylol) nach der Thrombininfusion

Versuche H 47 - H 49, H 58, H 59 und T 1 - T 3

1. Daten zu den Versuchen und Schilderung des Versuchsablaufs

Die Versuchstiere der Hauptversuche H 47 - H 49 und H 58, H 59 waren 3,8 +/- 0,7 kg schwer. Die Vergleichstiere T 1 - T 3 wogen 3,2 +/- 0,5 kg.

Während der Versuche verloren die Kaninchen zwischen 32 ml und 112 ml Blut durch die Entnahme von Blutproben. Der Blutverlust wurde durch die Infusion von Dextran 60 (Macrodex 6 %) und physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen.

Thrombin :
Für die Versuchstiere H 47 - H 49, H 58 und H 59 betrug die Thrombindosis 400 NIH Einheiten Thrombin / kg Körpergewicht.

Bei den Versuchen T 1 - T 3 wurde k e i n Thrombin gegeben.

Kallikrein - Trypsin- Inhibitor (Trasylol) :
Die Trasylol - Gesamtdosis belief sich für jedes Versuchstier auf 500 000 KIE Trasylol. Die Inhibitordosis pro Kilogramm Körpergewicht schwankte bei den Hauptversuchen zwischen 110 000 KIE Trasylol / kg und 160 000 KIE Trasylol / kg, bei den thrombinfreien Vergleichsversuchen zwischen 135 000 KIE Trasylol und 185 000 KIE Trasylol / kg.

Versuchsablauf :

In einem Zeitraum von 60 Minuten wurde dem Versuchstier die Thrombindosis von 400 NIH Einheiten Thrombin / kg Körpergewicht gelöst in 45 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) infundiert. Die Vergleichstiere T 1 - T 3 erhielten Dextran 60 (Macrodex 6 %) ohne Thrombin. Diese Infusionsdauer wurde konstant gehalten und nur bei einem Versuch (H 49) um 3,5 Minuten überschritten (+ 5,8 % Fehler). Unmittelbar im Anschluß an diese Infusion wurden allen Tieren 200 000 KIE Trasylol gespritzt. Die Injektion dauerte 4 +/- 1 Minuten. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug 15 000 KIE / Minute / kg Körpergewicht. Schwankungen von +/- 5 000 KIE / Min. / kg waren technisch nicht zu vermeiden. An die Trasylolinjektion schloß die kontinuierliche Infusion weiterer 300 000 KIE Trasylol an. Ihre Geschwindigkeit betrug 6 000 KIE Trasylol / Minute / kg Körpergewicht. Sie schwankte um +/- 2 700 KIE / Min. / kg. Die Trasylolinfusion dauerte im Durchschnitt 18 Minuten (+/- 8 Minuten Abweichung). Die Trasylolinfusion war im Mittel 81,5 Minuten nach Versuchsbeginn (Start der Thrombininfusion) beendet. Die Abweichung von +/- 8 Minuten bei der Trasylolinfusion bedeutet einen Fehler von +/- 10 %.

Nach Infusionsende wurden die Kaninchen zu verschiedenen Zeitpunkten getötet. Die histologischen Präparate erfassen den Zeitraum zwischen 16 und 122 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin 16 Minuten - 122 Minuten). Das entspricht einem zeitlichen Abstand vom Ende der Trasylolinfusion von 2 bis 97 Minuten (ta Trasylol 2 Minuten - 97 Minuten).
Der Vergleichsversuch T 1 liegt außerhalb dieses Zeitraums (Versuch T 1, ta Trasylol 154 Minuten).

2. Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Nieren und Lungen der Versuchstiere H 47 - H 49, H 58, H 59 und T 1 - T 3

a. Niere

Bei den Kaninchen aus dieser Versuchsreihe, die Thrombin und Trasylol bekommen hatten können in den Glomerulumkapillaren der Nieren Fibrinthromben erst zwei Stunden nach dem Ende der Thrombininfusion, oder 100 Minuten nach dem Ende der Trasylolinfusion gefunden werden.
(Versuch H 48, ta Thrombin 122 Minuten / ta Trasylol 101 Minuten)
Einschränkend muß bemerkt werden, daß sich dieser Befund nur bei einem der beiden Nierenpräparate dieses Versuchstieres erheben ließ. Das Parallelpräparat aus der anderen Niere war vollkommen negativ. Ob der Grund dafür im Organ selber, oder in der histologischen Verarbeitung des Organs lag, konnte nachträglich nicht mehr festgestellt werden.
Ein zweites Versuchstier, das zu dem entsprechenden Zeitpunkt getötet wurde, zeigte in beiden Nieren viele mit Fibrinthromben verschlossene Glomerulumkapillarschlingen (Versuch H 47, ta Thrombin 122 Minuten / ta Trasylol 97 Minuten).
Die morphologischen Veränderungen an den fibrinverlegten Kapillarschlingen entsprechen denen, die bereits bei den anderen Versuchstypen beobachtet wurden und bei der Besprechung des Versuchstyps " B " näher beschrieben wurden (vgl. Seite 42).

Auch im übrigen Kapillarbett der Nieren läßt sich Fibrin erst zwei Stunden nach dem Ende der Thrombininfusion nachweisen. Es findet sich in den intertubulären Kapillaren der Nierenrinde, während das Mark frei bleibt.

In größeren Nierengefäßen wurde nie Fibrin gesehen.

Die Nieren der thrombinfreien Vergleichsversuche zeigen keinerlei Fibrinthrombenbildung in ihrer Mikrostrombahn.

Quantitative Auswertung

Alle Nierenpräparate wurden auch quantitativ nach der eingangs beschriebenen Methode ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 6 auf der folgenden Seite.

In dieser Tabelle sind die Versuche nach steigender Überlebenszeit nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin) und dem Ende der Trasylolinfusion (ta Trasylol) geordnet.
Die quantitativen Ergebnisse können für jeden Versuch in der selben Zeile, getrennt nach teilweisem Verschluß der Glomerulumkapillaren (Kategorie "c") und vollständigem Verschluß (Kategorie "d") abgelesen werden. Von jedem Versuchstier wurden nach Möglichkeit zwei Nierenpräparate ausgezählt. Die Ergebnisse sind untereinander in der Tabelle angeordnet.

Die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate dieser Versuchsserie wurden auf Seite 84 graphisch dargestellt. (Graphik 5)

Tabelle 6

Vers.	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der			Fibrinpositive Glomerula in % d. ausgezählten Glomerula	
	Trasylol-Infusion	Dextran-Thrombin-Infusion	Dextran-Infusion	Kategorie "c"	Kategorie "d"
H 59	02 Min.	16 Min.		0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
H 49	08 Min.	37 Min.		0,0 %	0,0 %
				1,2 %	0,0 %
T 03	40 Min.		62 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
H 58	35 Min.	60 Min.		0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %
T 02	97 Min.		123 Min.	0,0 %	0,0 %
H 48	101 Min.	122 Min.		0,9 %	0,0 %
				16,5 %	30,2 %
H 47	97 Min.	122 Min.		18,2 %	58,7 %
				9,4 %	76,4 %
T 01	154 Min.		183 Min.	0,0 %	0,0 %
				0,0 %	0,0 %

b. Lunge

Selbst zwei Stunden nach dem Ende der Thrombininfusion konnten bei keinem Versuchstier, das Thrombin und Trasylol bekommen hatte Fibrinthromben in den Lungenkapillaren gefunden werden.

Auch die größeren Lungengefäße waren frei von Fibrin.

In den Lungen der Kaninchen aus thrombinfreien Vergleichsversuchen waren die Mikrostrombahn und die größeren Gefäße stets frei von Fibringerinnseln.

c. Zusammenfassung

Bei dem im Versuchstyp " E " gewählten Versuchsablauf können erst zwei Stunden nach dem Ende der Thrombininfusion, ungefähr 100 Minuten nach dem Ende der Trasylolinfusion zahlreiche Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren der Niere gefunden werden. Gleichzeitig tritt Fibrin auch in einigen intertubulären Kapillaren der Nierenrinde auf. Es kommt zu diesem Zeitpunkt, zumindest in der Niere zu disseminierter intravasaler Gerinnung. Demgegenüber zeigen die Lungen zu keiner Zeit Fibringerinnsel in ihrem Kapillarbett.

Versuchstyp " E "

Einzelversuch H 50

Zu der vorstehend geschilderten Versuchsreihe gehört noch der Versuch H 50. Er wurde aus der Serie ausgeklammert, da die Trasylolapplikation zeitlich zu weit von dem, im Versuchstyp " E " vorgegebenen Schema abweicht. Das Versuchsergebnis läßt sich nicht mit den übrigen Ergebnissen aus dieser Serie vergleichen, es soll aber der Vollständigkeit halber aufgeführt werden.

1. Daten zum Versuch und Schilderung des Versuchsablaufs

Das Versuchstier hatte ein Gewicht von 2,6 kg.
Das Kaninchen verlor während des Versuchs 71,5 ml Blut durch die Entnahme von Blutproben.

Thrombindosis, Trasyloldosis, die Menge an Dextran 60 (Macrodex 6 %) und die Menge physiologischer Kochsalzlösung richteten sich genau nach dem im Versuchstyp " E " vorgegebenen Muster. Die Injektion der ersten 200 000 KIE Trasylol begann, im Gegensatz zu den übrigen Versuchen dieser Serie erst 15 Minuten nach dem Abschluß der einstündigen Thrombininfusion. Die Injektion dauerte 3 Minuten. Ihr folgte die kontinuierliche Infusion weiterer 300 000 KIE Trasylol. Diese Infusion dauerte 21 Minuten. Die Trasylolapplikation war erst 39 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion beendet.

Das Versuchstier wurde 124 Minuten nach der Thrombininfusion und 85 Minuten nach dem Ende der Trasylolinfusion getötet (Versuch H 50, ta Thrombin 124 Minuten / ta Trasylol 85 Minuten).

2. Ergebnis der histologischen Untersuchung der Nieren und Lungen des Versuchstiers H 50

a. Niere

In den Nieren dieses Versuchstieres konnte nur ganz vereinzelt Fibrin in den Glomerulumkapillaren gefunden werden. Die spärlichen Befunde spiegeln sich im Ergebnis der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate wieder :
0,4 % und 1, 0 % der ausgezählten Glomerula waren teilweise mit Fibringerinnseln verlegt (Kategorie "c").
0,4 % und 0,0 % der ausgezählten Glomerula waren vollkommen mit Fibrinthromben verstopft.(Kategorie "d").
In größeren Gefäßen konnte kein Fibrin gefunden werden.

b. Lunge

Weder in der Mikrostrombahn, noch in größeren Gefäßen der Lunge konnten Fibringerinnsel nachgewiesen werden.

Applikation des Inhibitors (Trasylol) nach der Thrombininfusion bei gleichzeitiger, experimentell erzeugter Acidose

1. Vorversuche mit Thrombin, ohne Trasylol

Versuche H 51 - H 54

Daten zu den Versuchen :

Die Versuchstiere wogen 2,9 kg, 3,6 kg und 4,0 kg.
Die Kaninchen verloren während der Versuche zwischen 25 ml und 68 ml Blut durch die Entnahme von Blutproben. Der Blutverlust wurde durch die Infusion von Dextran 60 (Macrodex 6 %) und physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen.

Thrombin :
Die Dosis betrug 400 NIH Einheiten Thrombin / kg Körpergewicht.

Milchsäure :
Durch die Infusion einmolarer Milchsäure wurde eine künstliche Acidose erzeugt. Im einzelnen wurden folgende Mengen Milchsäure verabreicht :

Versuch	ml Milchsäure pro Stunde	ml Milchsäure gesamt
H 51	11 ml	17 ml
H 52	10 ml	15 ml
H 53	6 ml	12 ml
H 54	5 ml	16 ml

Obwohl die Dosis Milchsäure / Stunde bis auf 5 ml gesenkt wurde, überlebte keines der Versuchstiere mehr als 17 ml Milchsäure - Gesamtdosis. Ein Kaninchen verendete bereits 24 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion, die anderen drei nach einer Stunde.

2. Hauptversuche mit Thrombin und Trasylol

Versuche H 55 - H 57

Daten zu den Versuchen :

Die Versuchstiere wogen 4,0 kg, 4,1 kg und 4,2 kg.
Die Blutverluste bei der Entnahme der Blutproben wurden wieder durch die Infusion von Dextran 60 (Macrodex 6 %) und physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen.

Thrombin :
Die Dosis betrug 400 NIH Einheiten Thrombin / kg Körpergewicht.

Kallikrein - Trypsin - Inhibitor (Trasylol) :
Die Trasylol - Gesamtdosis betrug für jedes Versuchstier 500 000 KIE Trasylol. Das entspricht 122 000 KIE Trasylol / kg Körpergewicht (Abweichung durch unterschiedliches Gewicht : +/- 3 000 KIE / kg).

Durch die Infusion einmolarer Milchsäure wurde eine künstliche Acidose erzeugt. Im einzelnen wurden folgende Mengen Milchsäure verabreicht :

Versuch	ml Milchsäure pro Stunde	ml Milchsäure gesamt
H 55	8 ml	16 ml
H 56	9 ml	16 ml
H 57	6 ml	16 ml

Obwohl die Dosis Milchsäure / Stunde möglichst klein gehalten wurde, überlebte keines der Kaninchen eine Gesamtdosis von 16 ml. Sie verendeten innerhalb 30 bis 60 Minuten nachdem die Thrombininfusion abgeschlossen war.

3. Versuchsablauf

Die Thrombindosis wurde bei allen Versuchen (H 51 - H 57) in 45 ml Dextran 60 (Macrodex 6 %) gelöst und in einem Zeitraum von 60 Minuten infundiert. Gleichzeitig wurde den Kaninchen in definierten zeitlichen Abständen Milchsäure infundiert, deren Dosierung sich nach dem Körpergewicht des Versuchstiers richtete. Diese Infusion erfolgte unter Umständen über einen zweiten Zugang zum venösen System. Die Milchsäure wurde bis zum Tod des Versuchstiers infundiert.
Die Applikation der Trasyloldosis entsprach dem Schema, wie es im Versuchstyp " E " vorlag (vgl. Seite 62). Unmittelbar in Anschluß an die Thrombininfusion wurden dem Versuchstier 200 000 KIE Trasylol injiziert. Die Injektion dauerte 2,5 bis 3 Minuten. Die Injektionsgeschwindigkeit lag bei 18 000 KIE / Minute / kg Körpergewicht.
(Abweichung: +/- 2 000 KIE / Min. / kg)
Im Anschluß daran wurden weitere 300 000 KIE Trasylol infundiert. Diese Infusion dauerte zwischen 11,5 Minuten und 18 Minuten. Trasylol wurde mit einer Geschwindigkeit von 4 000 - 6 000 KIE / Min. / kg infundiert.
Die Applikation von Trasylol entfiel bei den Versuchen H 51 - H 54.

Keines der Versuchstiere lebte länger als 63 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion. Einige verendeten früher, andere wurden kurz vor dem Verenden zu einem definierten Zeitpunkt getötet. Der histologischen Auswertung stehen damit Präparate zur Verfügung, die zwischen 24 Minuten und 63 Minuten nach Thrombin bei den Vorversuchen, zwischen 30 und 60 Minuten nach Thrombin bei den Hauptversuchen entnommen wurden. Der Abstand zur Trasylolinfusion betrug bei den Hauptversuchen zwischen 9 und 46 Minuten.

4. Ergebnisse der histologischen Untersuchung von Nieren und Lungen der Versuchstiere H 51 - H 54, H 55 - H 57

a. Niere

In den Glomerulumkapillaren der Nieren aus den Vorversuchen H 51 - H 54 finden sich vereinzelt teilweise Verschlüsse durch Fibrinthromben. Totale Verschlüsse der gesamten Kapillarschlinge wurden in Analogie zur alleinigen Thrombininfusion ohne Acidose (Versuche H 25 - H 35) nicht gesehen. Insgesamt sind die Befunde zu geringfügig, als daß man von " disseminierter intravasaler Gerinnung"sprechen könnte.
Bei der Kombination der Thrombininfusion mit der Gabe von Trasylol läßt sich die disseminierte intravasale Gerinnung auch bei gleichzeitig vorliegender Acidose in den Glomerulumkapillaren der Nieren nachweisen. Das Außmaß der Thrombenbildung weicht nicht von dem, bei fehlender Acidose in den übrigen Versuchsserien beobachteten, ab. Auch die morphologischen Veränderungen am Glomerulum, wie Schwellung der Kapillarwand und Vergrößerung des gesamten Glomerulums entsprechen den Bildern, wie man sie bei Parallelversuchen ohne Acidose sieht.
Dagegen tritt bei gleichzeitig mit der Applikation von Thrombin und Trasylol vorliegender Acidose die massive Thrombusbildung in den Glomerulumkapillaren bereits eine Stunde früher auf, als in nicht acidotischen Parallelversuchen. Wie bei dem zuvor besprochenen Versuchstyp " E " gezeigt wurde, treten dort erste massivere Befunde erst zwei Stunden nach dem Ende der Thrombininfusion auf (Versuch H 47, ta Thrombin 122 Minuten / ta Trasylol 97 Minuten). Bei den Versuchen mit gleichzeitig experimentell erzeugter Acidose lassen sich die gleichen Befunde bereits eine Stunde früher erheben (Versuch H 55, ta Thrombin 55 Minuten / ta Trasylol 37 Minuten).

In den intertubulären Kapillaren der Nierenrinde lassen sich wesentlich weniger Fibringerinnsel nachweisen, als in den Glomerula. Auch dieser Befund stimmt mit den nicht acidotischen Versuchen überein.

Die größeren Nierengefäße sind stets frei von Fibringerinnseln.

Quantitative Auswertung

Alle Nierenpräparate wurden auch quantitativ nach der eingangs beschriebenen Methode ausgewertet. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 7 auf der folgenden Seite.

In dieser Tabelle sind die Versuche nach steigender Überlebenszeit nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin) und dem Ende der Trasylolinfusion (ta Trasylol) geordnet.
Die quantitativen Ergebnisse können für jeden Versuch in der selben Zeile, getrennt nach teilweisem Verschluß der Glomerulumkapillaren durch Fibrinthromben (Kategorie "c") und vollständigem Verschluß (Kategorie "d") abgelesen werden. Von jedem Versuchstier wurden nach Möglichkeit zwei Nierenpräparate ausgezählt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle untereinander angeordnet.

Von einer graphischen Darstellung der Versuchsergebnisse wurde abgesehen.

Tabelle 7

Vers.	Zeitlicher Abstand des Todes vom Ende der		Fibrinpositive Glomerula in % d. ausgezählten Glomerula	
	Trasylol-Infusion	Dextran-Thrombin-Infusion	Kategorie "c"	Kategorie "d"
H 52		24 Min.	0,0 %	0,0 %
			0,7 %	0,0 %
H 57	09 Min.	30 Min.	0,4 %	0,8 %
			1,6 %	0,3 %
H 55	37 Min.	55 Min.	1,0 %	74,0 %
			3,3 %	67,0 %
H 56	46 Min.	60 Min.	12,0 %	62,0 %
			10,0 %	58,0 %
H 51		62 Min.	0,0 %	0,0 %
			0,0 %	0,0 %
H 54		62 Min.	0,6 %	0,0 %
			0,4 %	0,0 %
H 53		63 Min.	0,0 %	0,0 %

b. Lunge

In Analogie zu den Nierenpräparaten lassen sich auch in den Lungen der Versuchstiere aus den Vorversuchen ohne Trasylol ganz vereinzelt Fibrinthromben im Kapillarbett nachweisen.(Versuch H 54, ta Thrombin 62 Minuten). Auch hier treten die feinen Fibrinfäden nicht in normal breiten, sondern nur in verbreiterten Alveolarsepten auf.
Auch in den Lungen kann zu keiner Zeit das Vollbild der disseminierten intravasalen Gerinnung erzeugt werden, wenn Thrombin bei gleichzeitiger Acidose infundiert wird.
Bei den Versuchstieren, die Thrombin und Trasylol bekommen hatten ließen sich wider Erwarten zu keiner Zeit Fibringerinnsel in der Mikrostrombahn der Lungen nachweisen.

Die größeren Lungengefäße waren stets frei von Fibrin.

c. Zusammenfassung

Bei Vorliegen einer Acidose, erzeugt durch die Infusion einmolarer Milchsäure, läßt sich die disseminierte intravasale Gerinnung in der Niere eine Stunde eher nachweisen, als bei Versuchen ohne Acidose. Vor aussetzung bleibt die kombinierte Applikation von Thrombin und Trasylol. Im Vordergrund steht der Befall der Glomerulumkapillaren, intertubuläre Kapillaren sind seltener beteiligt. Die besten Ergebnisse werden eine Stunde nach Thrombin, 45 Minuten nach Trasylol verzeichnet. Die durch den Fibrinthrombus hervorgerufenen morphologischen Veränderungen am Glomerulum entsprechen denen, die bei fehlender Acidose bereits gesehen werden.
Im Kapillarbett der Lungen kommt es zu keiner ausgedehnten Thrombenbildung. Vereinzelt treten kleinere Gerinnsel schon bei der einfachen Thrombininfusion mit gleichzeitiger Acidose auf. Die Applikation von Trasylol verbessert die bescheidenen Ergebnisse bei dem gewählten experimentellen Vorgehen nicht.

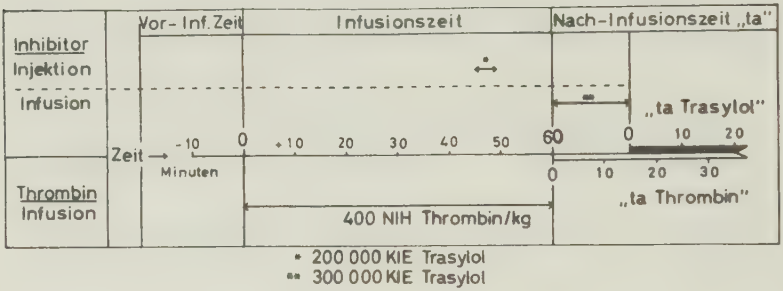
II. Graphische Darstellung der Ergebnisse

Anleitung zum Verständnis der graphischen Darstellungen

1. Die Darstellung des Versuchsablaufs

Für jede der einzelnen Versuchsserien liegt ein Zeitschema vor, das die charakteristischen Abschnitte im Versuchsablauf zeigt.

Beispiel :



Die einstündige Thrombininfusion bildete die Basis der Experimente. Ihre Dauer, die " Infusionszeit " wird durch einen Doppelpfeil im unteren Teil des Schemas dargestellt. Mit dem Ende der Thrombininfusion beginnt die " Nach - Infusionszeit ", die " time after Thrombin " (kurz: ta Thrombin) mit neuer Zeitskala, dargestellt durch den weißen Balken.

Da Trasylol bei manchen Versuchstypen noch vor dem Beginn der Thrombininfusion appliziert wurde, war es nötig, die " Vor - Infusionszeit " einzuführen. Ihre Zeitskala ist negativ.

Die zeitliche Lage und Dauer der Trasylol - Injektionen oder Infusionen wird durch Doppelpfeile im oberen Teil des Schemas dargestellt. Die jeweilige Trasyloldosis ist durch Sternchensymbole markiert und unterhalb der graphischen Darstellung abzulesen.
Mit dem Ende der Trasylol - Applikation beginnt, in Anlehnung an " ta Thrombin ", die " time after Trasylol " (kurz: ta Trasylol) mit einer eigenen Zeitskala, dargestellt durch den schwarzen Balken.

2. Die Darstellung der Versuchsergebnisse
Das Glomerulumsymbol

Um die Ergebnisse der quantitativen Auswertung der Nierenpräparate auch graphisch zu zeigen, wurden folgende Symbole entwickelt :

Jedes durch Auszählen der Glomerula quantitativ erfaßte Nierenpräparat wird durch ein schematisches Glomerulum (Kreis) symbolisiert. Der gepunktete Kreissektor entspricht dem prozentualen Anteil der Glomerula, deren Kapillarschlinge nur zum Teil durch Fibringerinnsel verlegt wird (Kategorie "c", vgl. Text Seite 14 und Abb. 2). Der schwarze Kreissektor entspricht dem Anteil total mit Fibrin verstopfter Glomerula (Kategorie "d", vgl. Text Seite 14 und Abb. 3).

Beispiel :

kein Fibrin nachweisbar

50 % der Glomerula zeigen Fibrin der Kategorie "c"

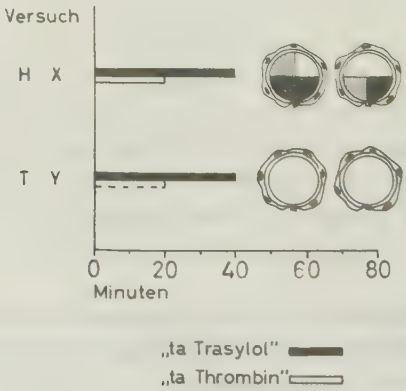
50 % der Glomerula zeigen Fibrin der Kategorie "d"

Die Ergebnisse werden für jede der beiden Nieren eines Versuchstiers in einem eigenen Glomerulumsymbol dargestellt. Die beiden Symbole liegen in der Graphik nebeneinander.
Die Ergebnisse der in 96 % Alkohol fixierten Präparate sind nicht berücksichtigt worden, sodaß bei manchen Versuchen nur ein Glomerulumsymbol, entsprechend dem Ergebnis des formalinfixierten Präparates, gezeichnet werden konnte.

Aufbau der graphischen Darstellungen

Die Versuche mit kombinierter Applikation von Thrombin und Trasylol sind im oberen Teil der Graphiken, Versuche mit Trasylol ohne Thrombin im unteren Teil aufgeführt.
Die Länge des weißen Balkens ist identisch mit der Überlebenszeit des Versuchstiers nach dem Ende der Thrombininfusion (ta Thrombin).
Die Länge des schwarzen Balkens ist identisch mit der Überlebenszeit des Versuchstiers nach dem Ende der Trasylolapplikation (ta Trasylol).
Die Länge des gestrichelten Balkens ist identisch mit der Überlebenszeit von thrombinfreien Versuchstieren nach dem Ende der Dextran - Infusion.
Alle Zeiten sind auf einen gemeinsamen Nullpunkt bezogen.

Beispiel :

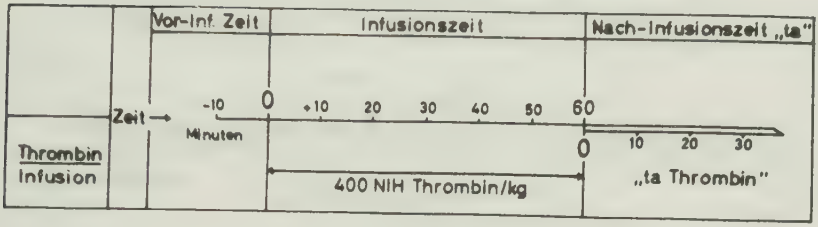


Versuch H X : Tod bei ta Thrombin 20 Min. / ta Trasylol 40 Min.
Ergebnis : Fibrin Kategorie "c" : 1. und 2. Präparat 25 %
Fibrin Kategorie "d" : 1. Präparat 50 %
2. Präparat 25 %

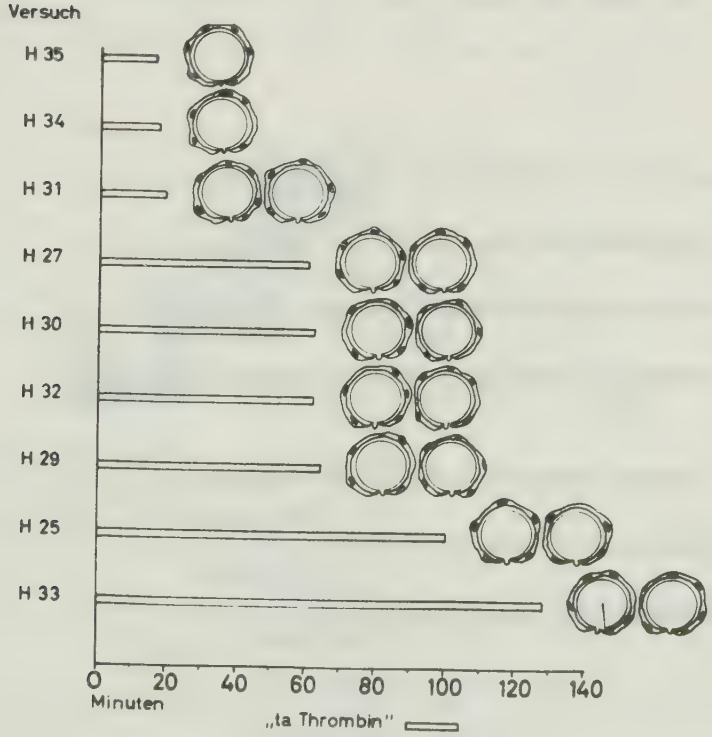
Versuch T Y : Tod nach Dextraninfusion 20 Min./ ta Trasylol 40 Min.
Ergebnis : In beiden Präparaten kein Fibrin nachweisbar

Thrombin-Infusion

Graphische Darstellung des Versuchsablaufs



Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse

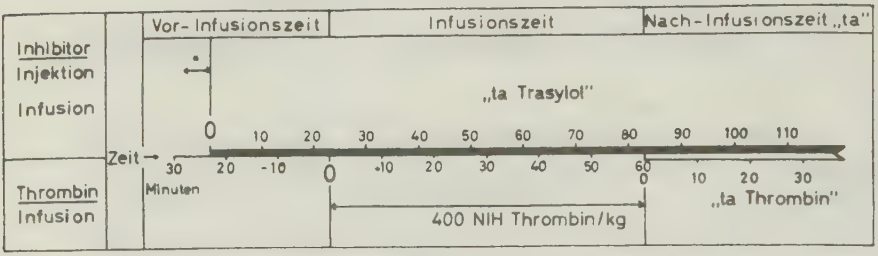


Graphik 1

Erklärung der Symbole siehe Seite 77 - 79

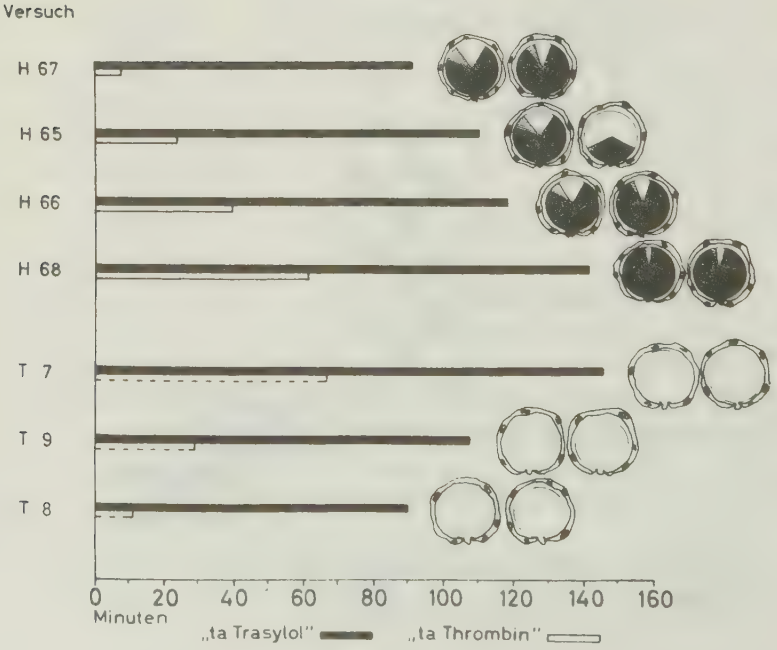
Versuchstyp B

Graphische Darstellung des Versuchsablaufs



• 500 000 KIE Trasylol

Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse

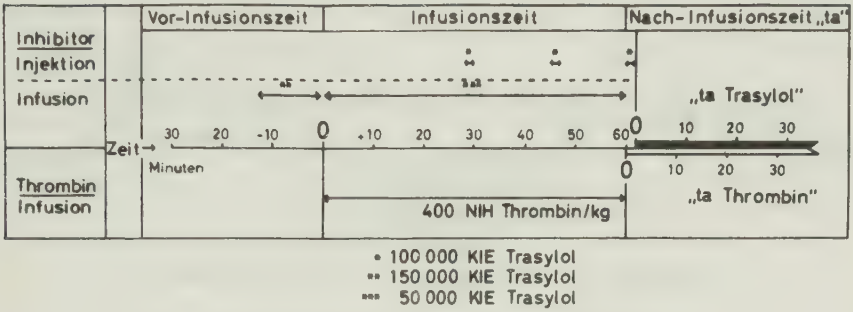


Graphik 2

Erklärung der Symbole siehe Seite 77 - 79

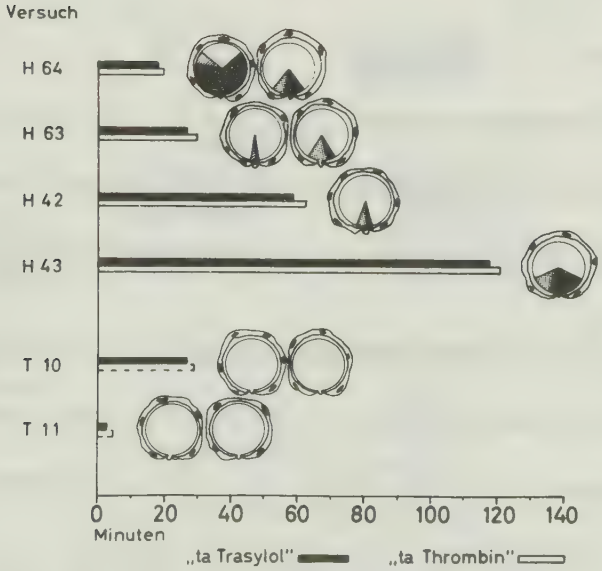
Versuchstyp C

Graphische Darstellung des Versuchsablaufs



* 100 000 KIE Trasylol
** 150 000 KIE Trasylol
*** 50 000 KIE Trasylol

Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse

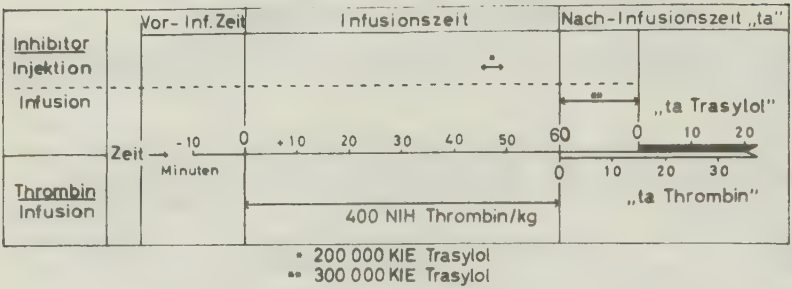


Graphik 3

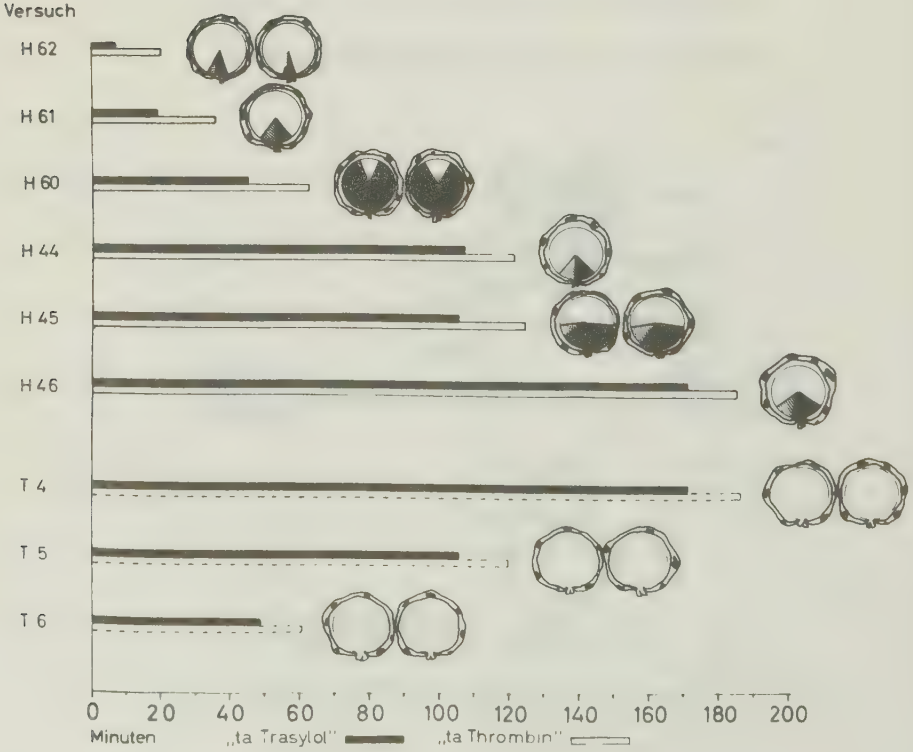
Erklärung der Symbole siehe Seite 77 - 79

Versuchstyp D

Graphische Darstellung des Versuchsablaufs



Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse

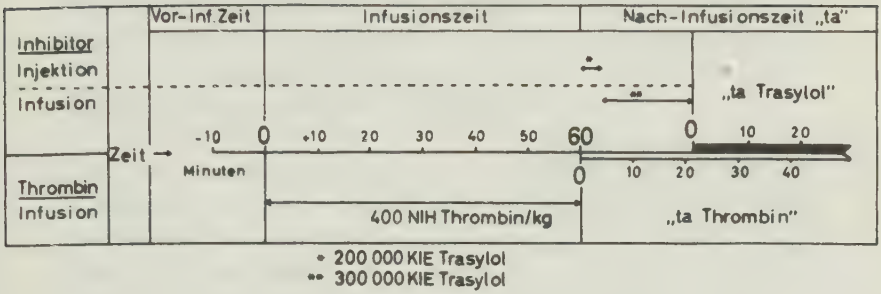


Graphik 4

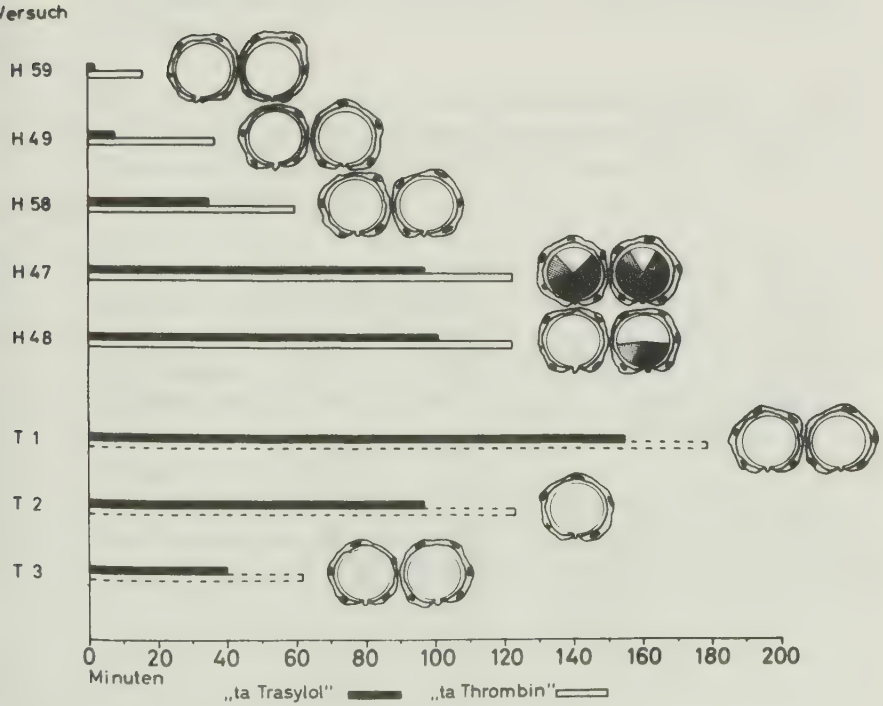
Erklärung der Symbole siehe Seite 77 - 79

Versuchstyp E

Graphische Darstellung des Versuchsablaufs



Graphische Darstellung der Versuchsergebnisse



Graphik 5

Erklärung der Symbole siehe Seite 77 - 79

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Der Plasmaexpander Dextran 60 (Macrodex 6 %), der als Träger von Thrombin diente, und die physiologische Kochsalzlösung, die Träger des Inhibitors (Trasylol) war und zum Offenhalten des Venenkatheters infundiert wurde, führten bei dem gewählten Versuchsablauf zu keiner Bildung von Fibrinthromben in den Mikrostrombahnen von Nieren und Lungen des Versuchstiers (Leerversuch).

Auch die disseminierte intravasale Gerinnung, die durch kombinierte Applikation von Thrombin und Trasylol erzeugt wurde, konnte durch Dextran 60 (Macrodex 6 %), zumindest bei der infundierten Menge (60 ml), nicht beeinflußt werden. Bei einem Versuch wurde statt des Dextran dieselbe Menge physiologischer Kochsalzlösung als Thrombinträger benutzt. Die Ergebnisse aus Nieren- und Lungenhistologie dieses Versuches zeigten keinen Unterschied zu den Ergebnissen der übrigen Versuche, bei denen Dextran der Träger von Thrombin war (Versuch H 39).

Die in der Literatur beschriebenen Thrombozytenaggregationen und Kapillarverödungen nach Infusion hochmolekularen Dextrans (36) wurden bei unseren Versuchen weder im Kapillarbett der Lungen, noch in dem der Nieren gefunden.

Eine sechzig Minuten dauernde langsame intravenöse Infusion von Thrombin (Dosis: 400 NIH Einheiten / kg Körpergewicht) war nicht geeignet, in den untersuchten Organen eine disseminierte intravasale Gerinnung auszulösen. Diese Aussage betrifft den Zeitraum zwischen 16 Minuten und 128 Minuten nach dem Ende der Thrombininfusion. Fibringerinnsel lassen sich nur ganz vereinzelt und spärlich finden (Versuche H 25 - H 35).
Diese Befunde decken sich mit den Beobachtungen anderer Autoren, daß durch die langsame intravenöse Infusion von Thrombin beim Kaninchen keine disseminierte intravasale Gerinnung erzeugt werden kann (34,35).

Die Injektion oder Infusion von Trasylol alleine, ohne daß Thrombin infundiert wurde, führte ebenfalls zu keiner histologisch nachweisbaren Bildung von Fibrinthromben im Gefäßbett der untersuchten Organe. Durch die Experimente wurde der Zeitraum zwischen 3 Minuten und 172 Minuten nach dem Ende der Trasylol - Applikation erfaßt (Versuche T 1 - T 11).

Durch die Kombination von Thrombin und Trasylol ließ sich die disseminierte intravasale Gerinnung auslösen. Die Fibrinthromben traten bevorzugt in den Glomerulumkapillarschlingen der Nieren auf. Dabei kam es zu einer allgemeinen Vergrößerung der betroffenen Glomerula. Die Wände der Kapillaren waren verbreitert, das Kapillarlumen stark eingeengt. Die Fibrinthromben waren stets von der Kapillarwand abgrenzbar.
Nekrosen (24) wurden zu keiner Zeit beobachtet. Das hängt wohl damit zusammen, daß die Versuchstiere schon relativ früh, noch vor Auftreten von Nekrosen, getötet wurden.
Weniger häufig waren Fibringerinnsel in den intertubulären Kapillaren der Nierenrinde nachweisbar. In den Kapillaren des Nierenmarks wurden sie nur selten beobachtet.
In keinem Fall kam es zu histologisch nachweisbaren Veränderungen an den Tubulusepithelien, die mit dem Auftreten von Fibringerinnseln in den intertubulären Kapillaren in Zusammenhang gebracht werden könnten.
Im Kapillarbett der Lungen wurde nur ganz vereinzelt Fibrin gefunden. Das Bild disseminierter intravasaler Gerinnungsvorgänge konnte in keiner Lunge, auch bei stärkstem Befall der entsprechenden Nieren, gesehen werden.
Bei den wenigen Fibrinthromben, die in der Mikrostrombahn der Lungen auftraten, könnte es sich zum Teil um verschleppte Thromben aus der Drosselvene handeln, die sich am Venenkatheter gebildet haben. Bei der Sektion der Versuchstiere konnten bisweilen makroskopisch Thromben im Bereich der Kathetermündung nachgewiesen werden, sodaß ein Abreißen kleiner Thrombusteile, besonders bei zu forcierter Injektion, denkbar wäre.

Zum Teil kann es sich aber auch um Fibrinthromben handeln, die an Ort und Stelle durch ungünstige hämodynamische Verhältnisse entstanden sind. Die Gerinnsel treten nämlich nie in Kapillaren auf, die in normal breiten Alveolarsepten verlaufen, sondern sind stets an Kapillaren gebunden, die in strukturell vergröberten Septen liegen. Solche verbreiterten Alveolarwände treten auch bei Versuchen auf, bei denen zu keiner Zeit Fibrin gefunden wurde, sodaß Fibringerinnsel als Ursache für die Alveolarseptenverbreiterung ausscheiden. Vielmehr sieht es so aus, als seien die vergröberten alveolären wände durch die obligatorische Hyperinfusion mit interstitiellem Odem, entstanden. Dadurch ist es an diesen Stellen zu lokalen Behinderungen des kapillaren Blutstroms gekommen, die durch Hämostase die Thrombusbildung begünstigt haben. Bei Applikation von Thrombin als weiteren, die Thrombusentstehung begünstigenden Faktor und Trasylol als Fibrinolysehemmer (44) werden diese Fibrinthromben manifest und histologisch länger nachweisbar.

Bei disseminierter intravasaler Gerinnung,ist, wie von anderen Autoren berichtet wird, bevorzugt in den Kapillarschlingen der Nierenglomerula mit dem Auftreten von Fibrinthromben zu rechnen (20, 24, 42). Diese Befunde können durch unsere Versuche bestätigt werden. Durch die quantitative Auswertung der Fibrinthrombenbildung in den Glomerula (Auszählen fibrinverstopfter Glomerula) sollten folgende Fragen geklärt werden :

1. Wann und in welchem Ausmaß ist mit dem Auftreten von Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren zu rechnen ?
2. Wie lange und in welchem Ausmaß lassen sich diese Gerinnsel nachweisen ?
3. Welche Abhängigkeit besteht dabei zur Applikationsform von Thrombin und Trasylol ?
4. Welche Beziehungen lassen sich zu den Ergebnissen gerinnungsphysiologischer Untersuchungen (Inhalt von Teil I dieser Arbeit) von Seiten der Histologie herstellen ?

Punkt 4. wird im Rahmen der Zusammenfassung abgehandelt. (vgl. S. 108).

Als Grundlage für die Beantwortung dieser Fragen diente der prozentuale Anteil vollkommen mit Fibrinthromben verstopfter Glomerulumkapillaren (Kategorie "d", vgl. Abb.3) an der Gesamtzahl der ausgezählten Glomerula eines jeden Nierenpräparates. Der Anteil der nur teilweise mit Fibrin verlegten Glomerula (Kategorie "c", vgl. Abb. 2) wurde nicht berücksichtigt, da ihm vergleichsweise nur eine geringe Aussagekraft zukommt.

Folgende vier Versuchstypen wurden in erster Linie untersucht :

Typ " B " :
Applikation des Inhibitors (Trasylol) v o r der Thrombininfusion

Typ " C " :
Applikation des Inhibitors (Trasylol) v o r , w ä h r e n d und n a c h der Thrombininfusion

Typ " D " :
Applikation des Inhibitors (Trasylol) w ä h r e n d und n a c h der Thrombininfusion

Typ " E " :
Applikation des Inhibitors (Trasylol) n a c h der Thrombininfusion

Bei allen vier Versuchstypen trat massive intravasale Gerinnung auf. Dabei waren mehr als 50 % der Glomerulumkapillaren in den Nieren vollständig mit Fibrinthromben verschlossen. Die Versuchstypen "D" und "E" zeigten, daß in der ersten Stunde nach Beginn der Inhibitorgabe mit keiner, oder nur einer geringen intravasalen Gerinnung zu rechnen ist. Nur beim Versuchstyp "D" wurden 34 Minuten und 48 Minuten nach dem Beginn der Trasylol - Applikation zwischen 5 % und 10 % der Glomerula mit Fibrinthromben verstopft gefunden.
Bei den Versuchstypen "B", "C" und "D" wurde die massive intravasale Gerinnung zum ersten Mal 77 Minuten - 97 Minuten, also ungefähr 80 Minuten - 100 Minuten nach Beginn der Trasylolgabe beobachtet. Für den Versuchstyp "E" fehlt ein Vergleichswert für diesen Zeitraum. Hier wurde die massive Thrombenbildung erst 122 Minuten nach Beginn der Trasylolgabe festgestellt.

Im Vergleich mit den übrigen Versuchsgruppen ist aber zu vermuten, daß auch hier bereits zwischen 80 Minuten und 100 Minuten nach Beginn der Inhibitorapplikation die Bildung intravasaler Gerinnsel eingesetzt hat. Bei dem Versuchstyp "B", Trasylol vor Thrombin, ließen sich die massivsten Befunde disseminierter intravasaler Gerinnung erheben. Diese setzte 97 Minuten nach Beginn der Trasylolinjektion ein und hielt 50 Minuten lang an. Es wurde der Zeitraum zwischen 97 Minuten und 147 Minuten nach Beginn der Inhibitorgabe beobachtet. Im Gegensatz zu den Versuchsgruppen "C" und "D" wurde innerhalb dieses Zeitraums der Anteil total verschlossener Glomerulumkapillaren noch größer : 74,8 % bzw. 84,6 % nach 97 Minuten gegenüber 96,2 % und 92,1 % noch nach 147 Minuten.
Für die Versuchsgruppen "C" und "D" ließ sich die massive disseminierte intravasale Gerinnung nur 77 Minuten und 91 Minuten nach dem Beginn der Inhibitorapplikation nachweisen. Danach sanken die Befunde sofort wieder auf niedrigere Werte ab. Es waren dann nur noch unter 50 %, meist sogar unter 25 % der Glomerulumkapillaren durch Fibringerinnsel total verschlossen. Die Thromben bleiben aber bis 200 Minuten nach Beginn der Inhibitorapplikation nachweisbar.
Die besonders hohe Rate fibrinverstopfter Glomerulumkapillaren bei Applikation des Fibrinolysehemmers Trasylol v o r der Thrombininfusion zeigt gewisse Parallelen zum Auftreten disseminierter intravasaler Gerinnung beim Kaninchen nach Thrombininfusion, bei z u v o r blockiertem RES.(21)

Die in diesem Abschnitt geschilderten Ergebnisse sind in der Graphik 6 auf Seite 92 dargestellt.

Das Auftreten der massiven, disseminierten intravasalen Gerinnung nach kombinierter Thrombin- / Trasylol - Applikation ist unabhängig davon, wann die Thrombininfusion stattfand und abhängig von dem Zeitpunkt, bei dem mit der Trasylolgabe begonnen wurde. Als Beispiele seien die Versuche H 67 und H 47 angeführt.

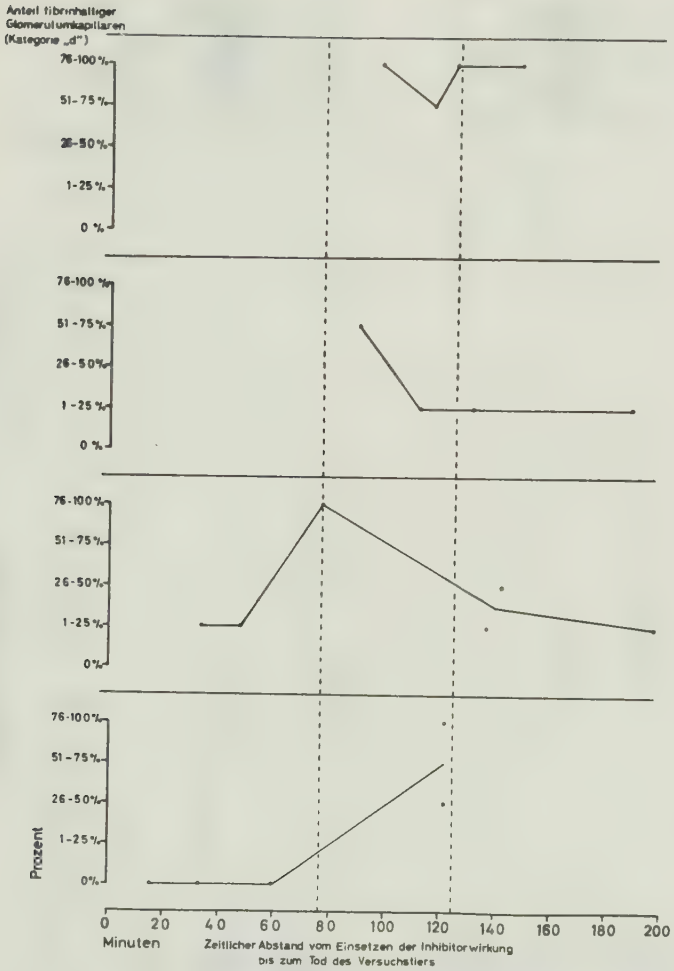
Der Abstand zwischen der Trasylolgabe und dem Tod des Versuchstiers betrug bei diesen Versuchen 92 Minuten, bzw. 97 Minuten. Dagegen lag die Thrombininfusion in einem Fall um 8 Minuten, im anderen um 122 Minuten zurück. In beiden Fällen kam es zu massiver intravasaler Gerinnung in den Glomerulumkapillaren.

Dieses Ergebnis veranschaulicht die Graphik 7 auf Seite 93. Gleichzeitig wird in dieser Graphik dargestellt, daß nur die kombinierte Gabe von Thrombin und Trasylol zu einer ausgedehnten und histologisch gut nachweisbaren Bildung und Stabilisierung von Fibrinthromben führt, nicht aber die isolierte Gabe einer dieser beiden Substanzen.

Bei experimentell erzeugter Acidose zur Blockade fibrinolytischer Aktivitäten des RES (42) läßt sich das histologische Bild disseminierter intravasaler Gerinnung in den Nieren eine Stunde eher erzeugen, als bei Parallelversuchen ohne Acidose. Vo raussetzung bleibt die kombinierte Applikation von Thrombin und Trasylol. Bevorzugt traten die Fibrinthromben wiederum in den Glomerulumkapillaren auf. In den Lungen der Versuchstiere konnte keine entsprechende massive Gerinnselbildung verzeichnet werden.

Anhang

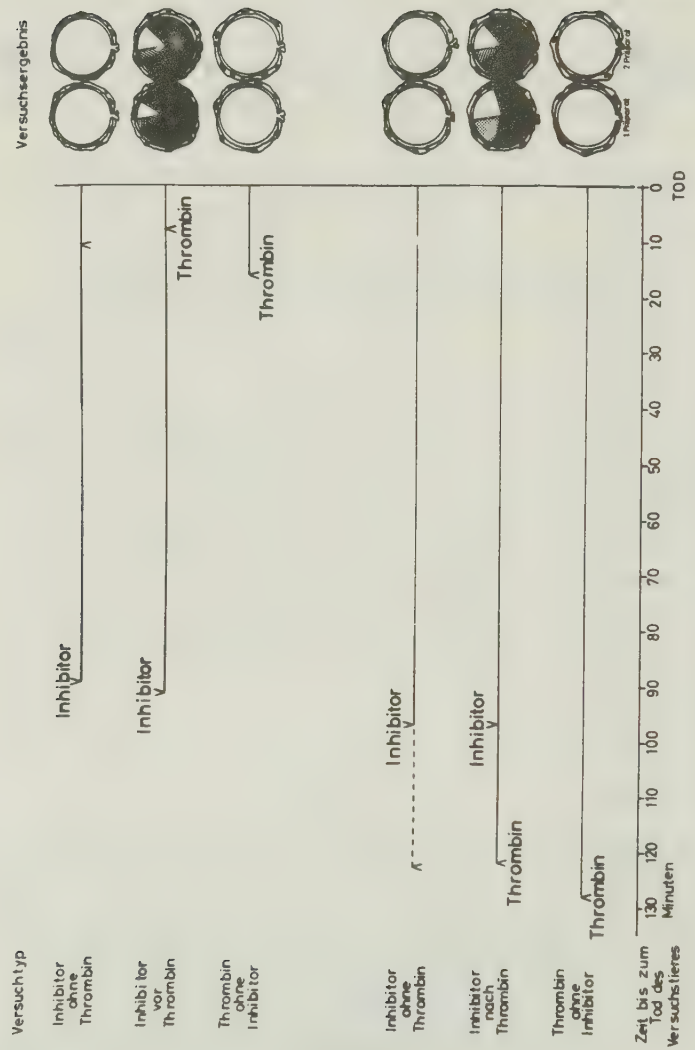
Bei einigen Versuchen wurden die Organe nicht nur in 5 % Formalin, sondern parallel dazu auch in 96 % Alkohol fixiert. (2)
Dabei zeigte sich, daß die in Alkohol fixierten Präparate in der Darstellung von Fibringerinnseln den in Formalin fixierten Präparaten unterlegen waren. Außerdem neigten sie besonders leicht zu falsch positiver Fibrinfärbung und zur Darstellung von Artefakten, besonders im Bereich der Organränder



Auftreten von Fibrin in den Kapillarschlingen der Glomerula in Abhängigkeit vom Abstand zum Beginn der Inhibitorapplikation.

Graphik 6

vgl. Text Seite 89 / 90



Graphik 7

vgl. Text Seite 90 / 91

Erklärung der Symbole

Seite 78

ABBILDUNGEN

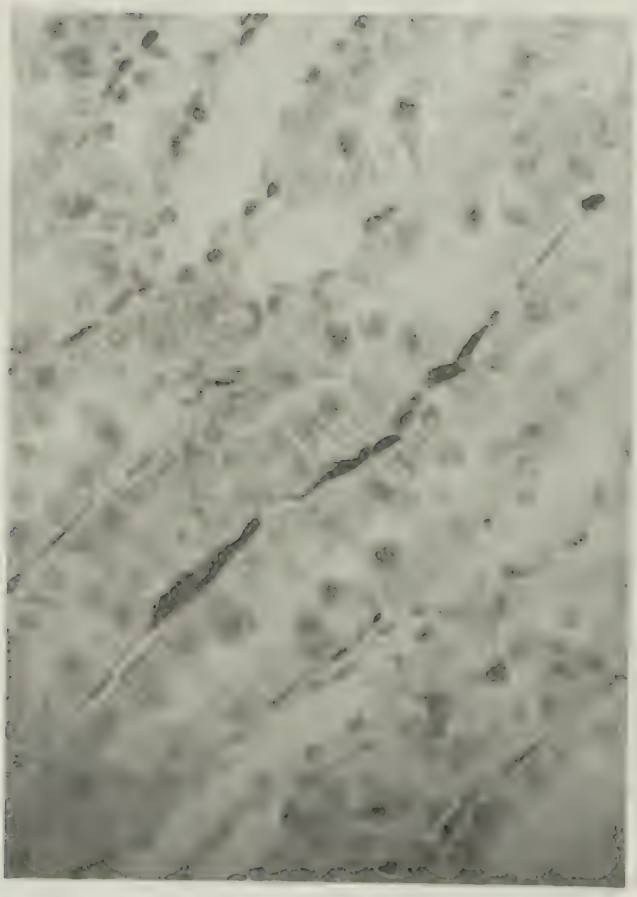


Abbildung 1 : Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Versuchstiers nach Applikation von Thrombin und Trasylol
Fibringerinnsel in einer intertubulären Kapillare
(Versuch H 68)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

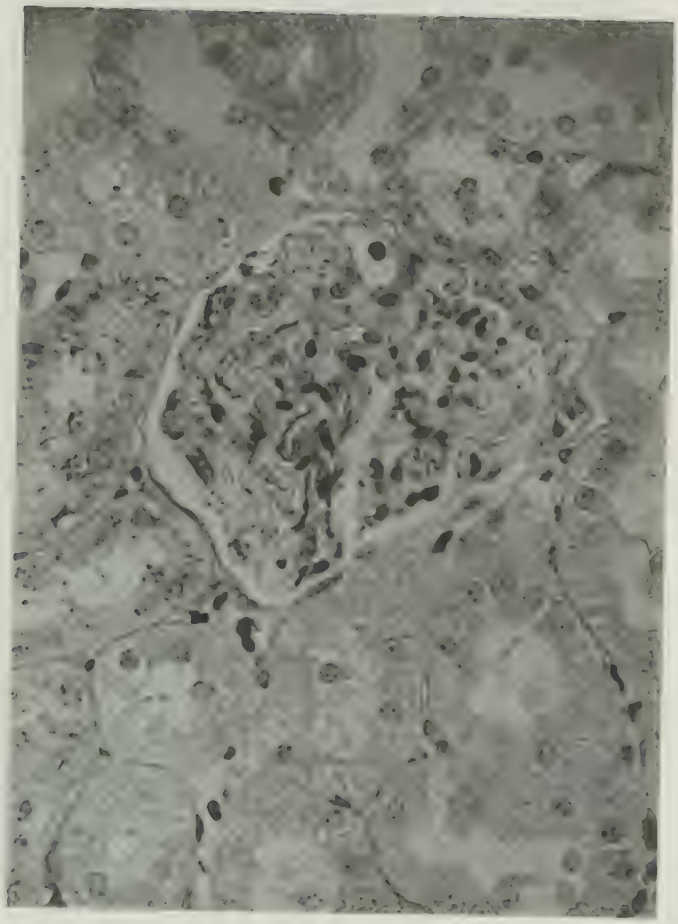


Abbildung 2 : Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Versuchstiers
nach Applikation von Thrombin und Trasylol
Teilweiser Verschluß einer Glomerulumkapillare
durch Fibringerinnsel, Kategorie "c" (Vers. H 68)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

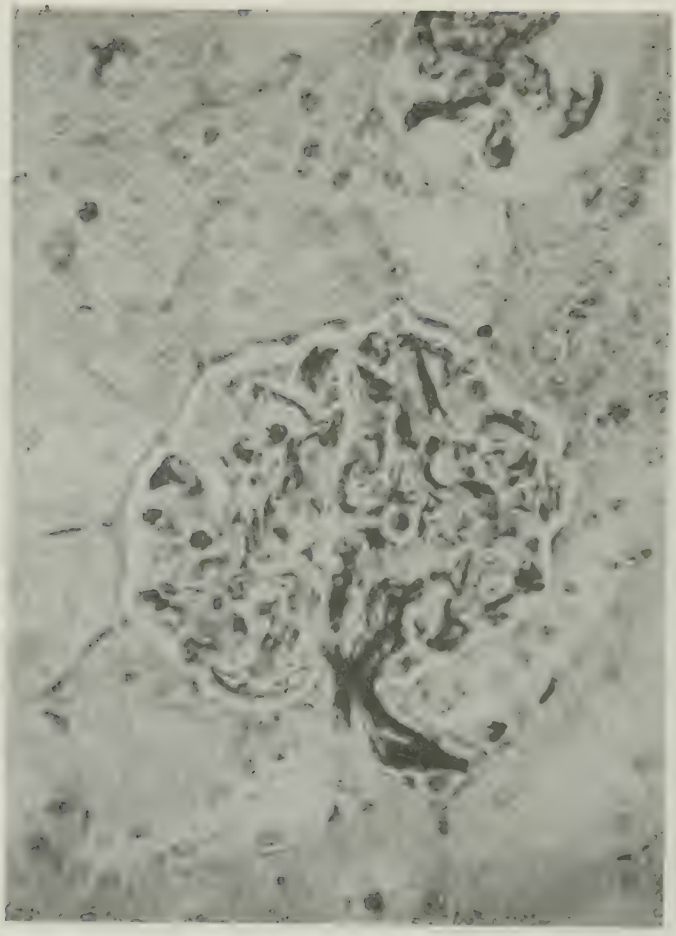


Abbildung 3 : Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Versuchstiers nach Applikation von Thrombin und Trasylol
Totaler Verschluß einer Glomerulumkapillarschlinge durch Fibrinthromben, Kategorie "d" (Vers. H 68)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

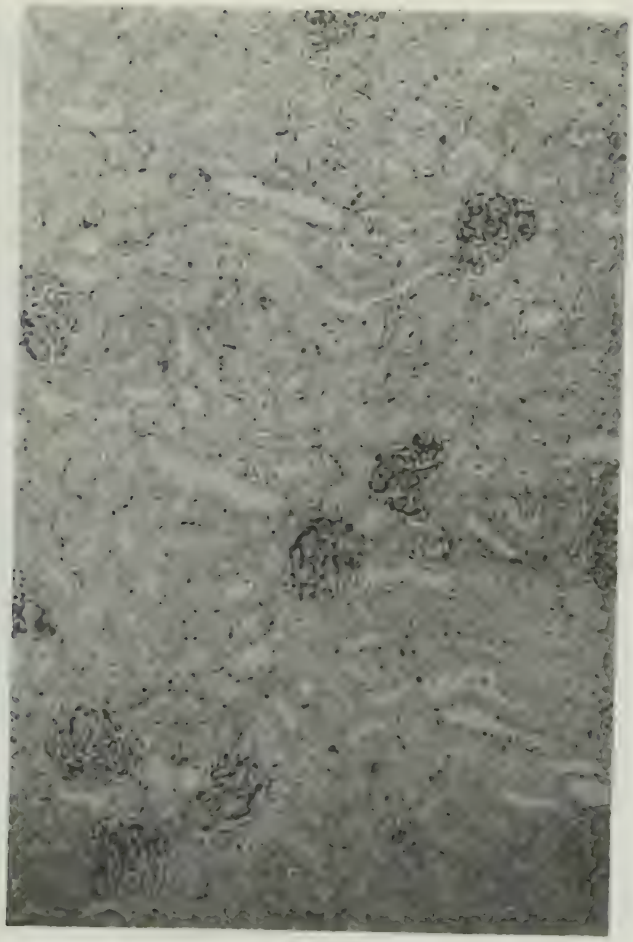


Abbildung 4 : Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Versuchstiers nach Applikation von Thrombin und Trasylol
Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillarschlingen
(Versuch n 68)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 100

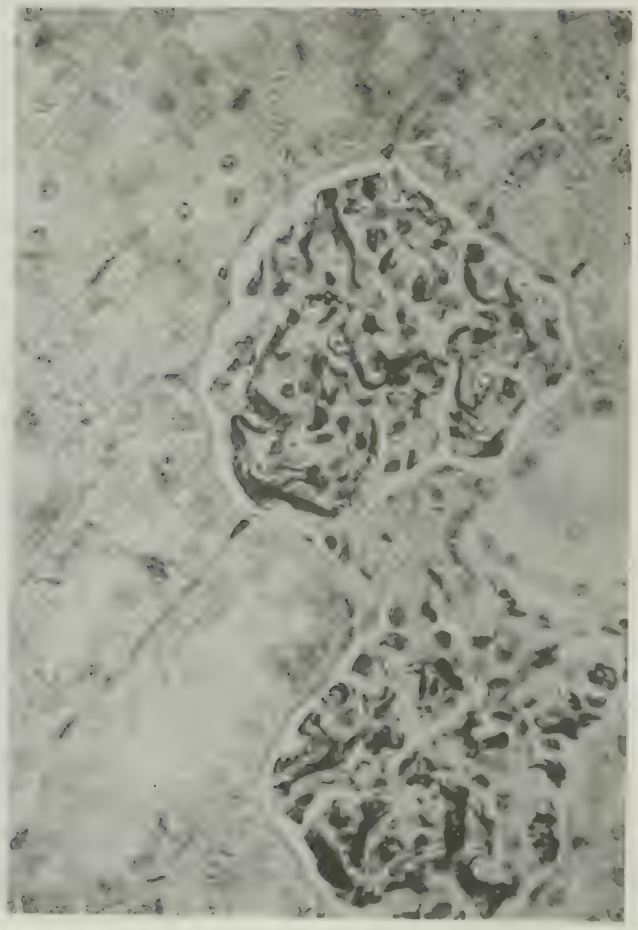


Abbildung 5 : Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Versuchstiers nach Applikation von Thrombin und Trasylol
Fibringerinnsel in den Kapillaren zweier benachbarter Glomerula
(Versuch H 68)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

Abbildung 6 : Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Versuchstiers nach Applikation von Trasylol ohne Thrombin
Keine Fibringerinnsel in den Glomerulumkapillaren und intertubulären Kapillaren nachweisbar
(Versuch T 7, Parallelversuch zu H 68 in Abb. 4)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 100

Abbildung 7 : Ausschnitt aus der Nierenrinde eines Versuchstiers nach Applikation von Trasylol ohne Thrombin
Keine Fibringerinnsel in den Kapillaren zweier benachbarter Glomerula nachweisbar
(Versuch T 7, Parallelversuch zu H 68 in Abb. 5)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

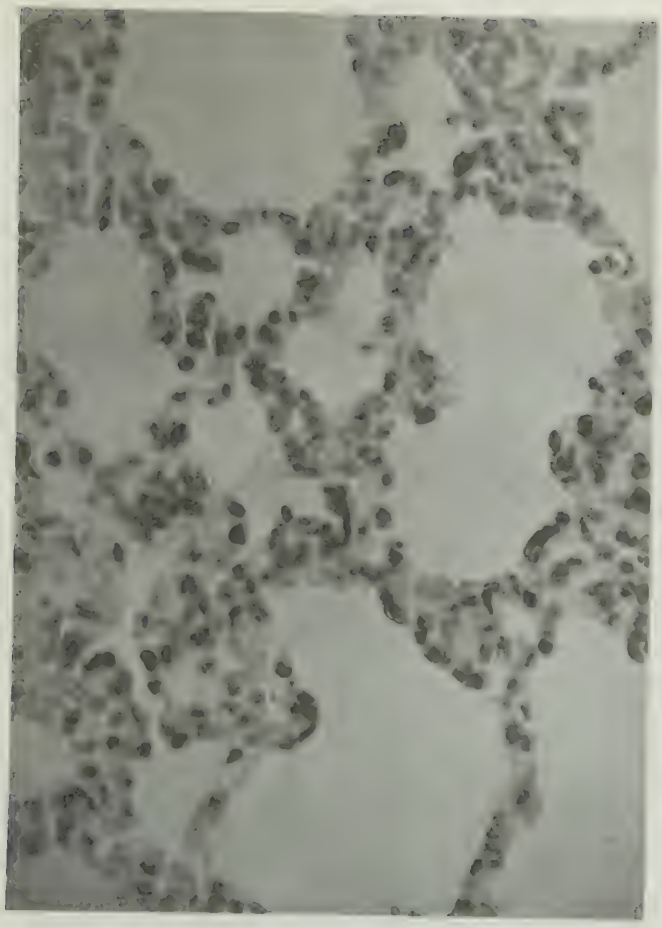


Abbildung 8 : Ausschnitt aus der Lunge eines Versuchstiers nach Applikation von Thrombin und Trasylol
Fibringerinnsel in einer Kapillare eines verbreiterten Alveolarseptums
(Versuch H 65)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

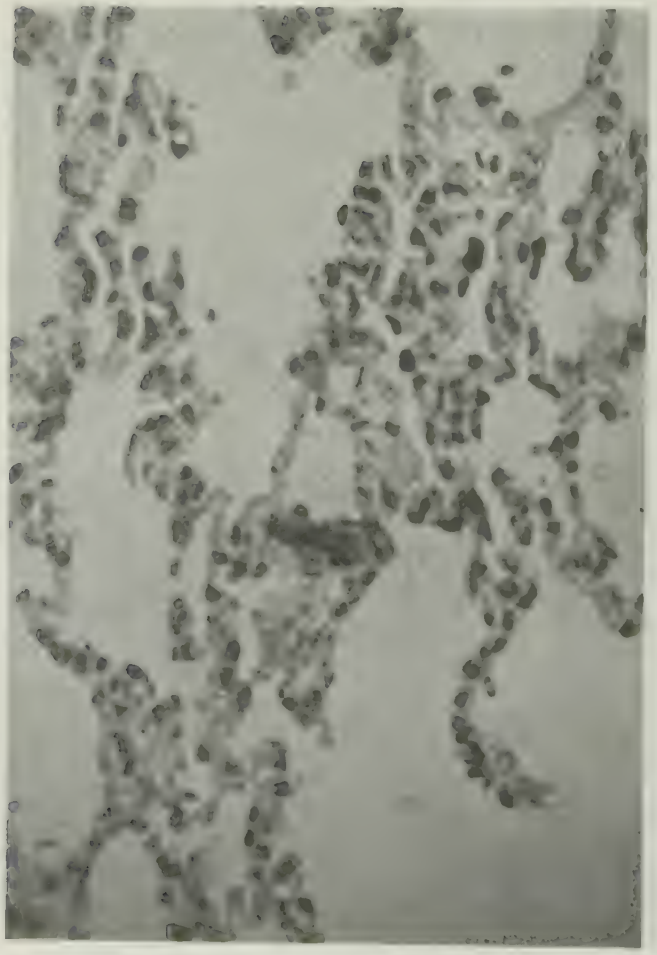


Abbildung 9 : Ausschnitt aus der Lunge eines Versuchstiers nach Applikation von Thrombin und Trasylol Fibringerinnsel in einer Kapillare eines verbreiterten Alveolarseptums
(Versuch H 64)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

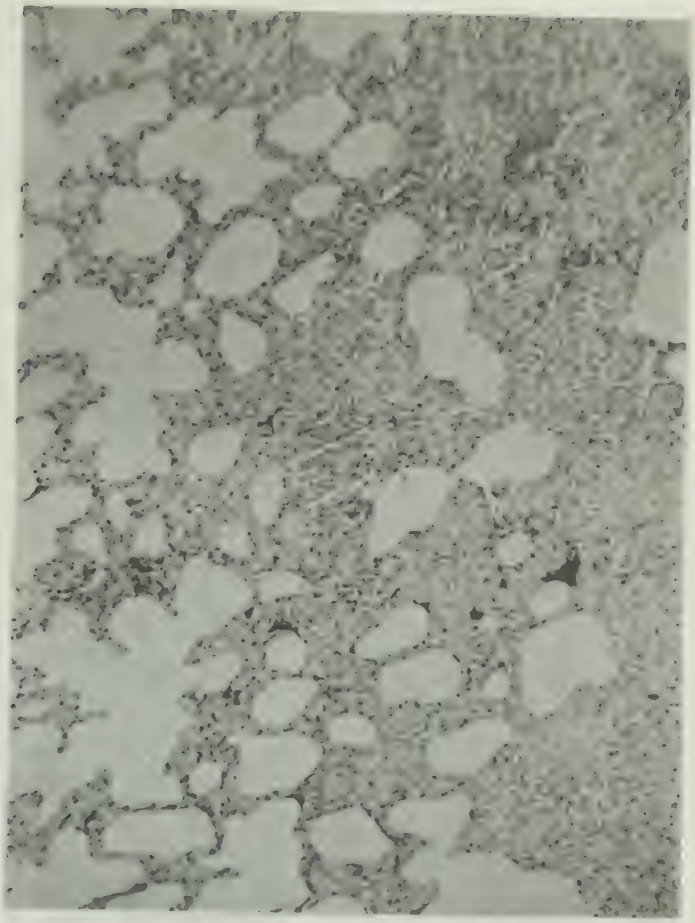


Abbildung 10 : Ausschnitt aus der Lunge eines Versuchstiers
nach Applikation von Dextran 60 (Macrodex 6 %)
Substantielles Lungenödem mit Neigung zu falsch
positiver Fibrinfärbung
(Versuch L 3)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 250

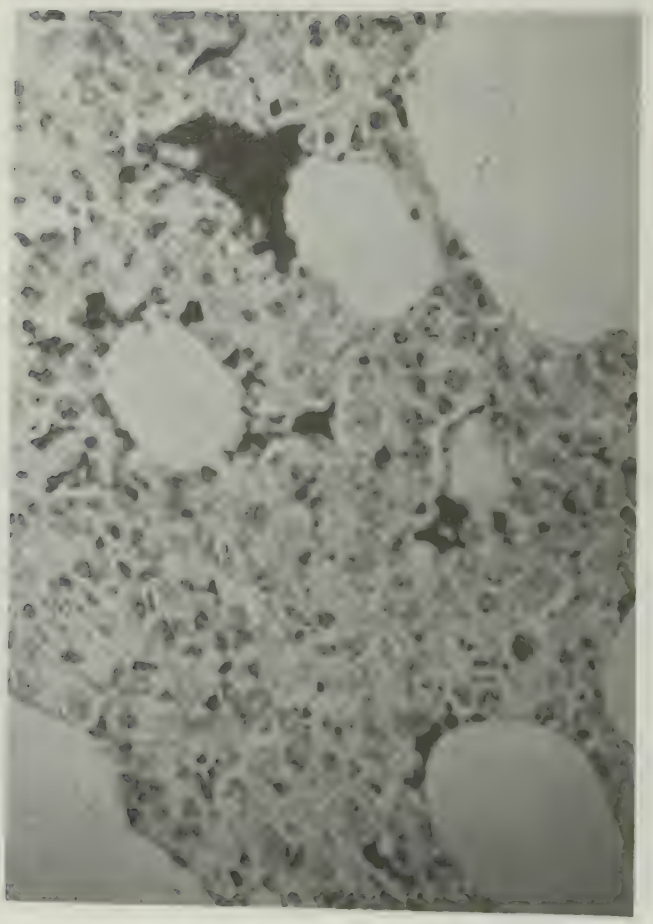


Abbildung 11 : Ausschnitt aus der Lunge eines Versuchstiers nach Applikation von Dextran 60 (Macrodex 6 %) Substantielles Lungenödem mit Neigung der Ödemflüssigkeit zu falsch positiver Fibrinfärbung (Versuch L 3)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

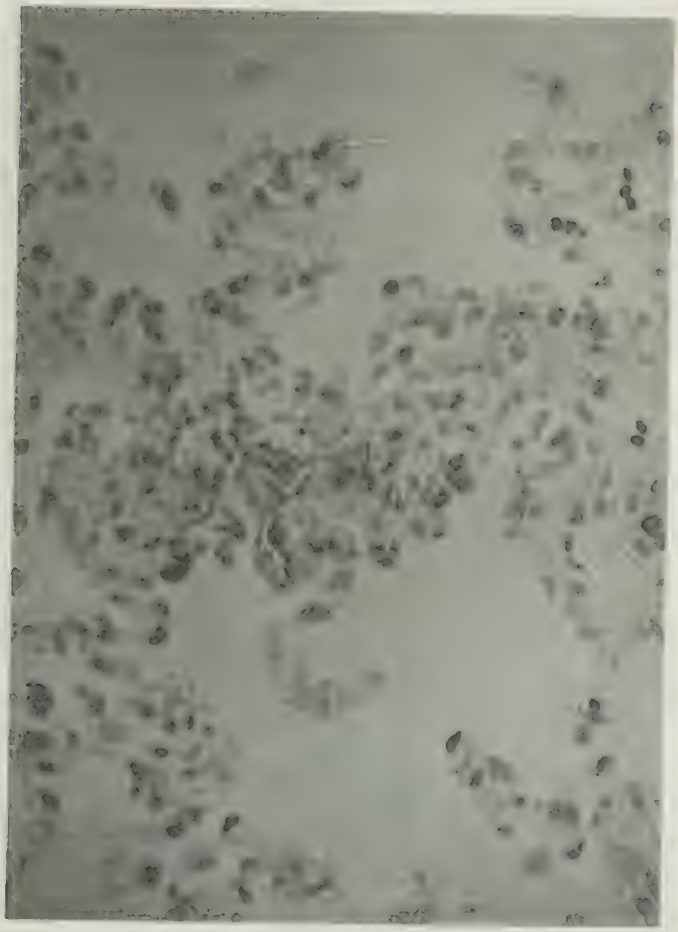


Abbildung 12 : Ausschnitt aus der Lunge eines Versuchstiers
nach Applikation von Trasylol ohne Thrombin
Nicht eindeutig als Fibrin zu identifizierendes
Geflecht innerhalb eines Alveolarseptums
(Versuch T 4)
Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

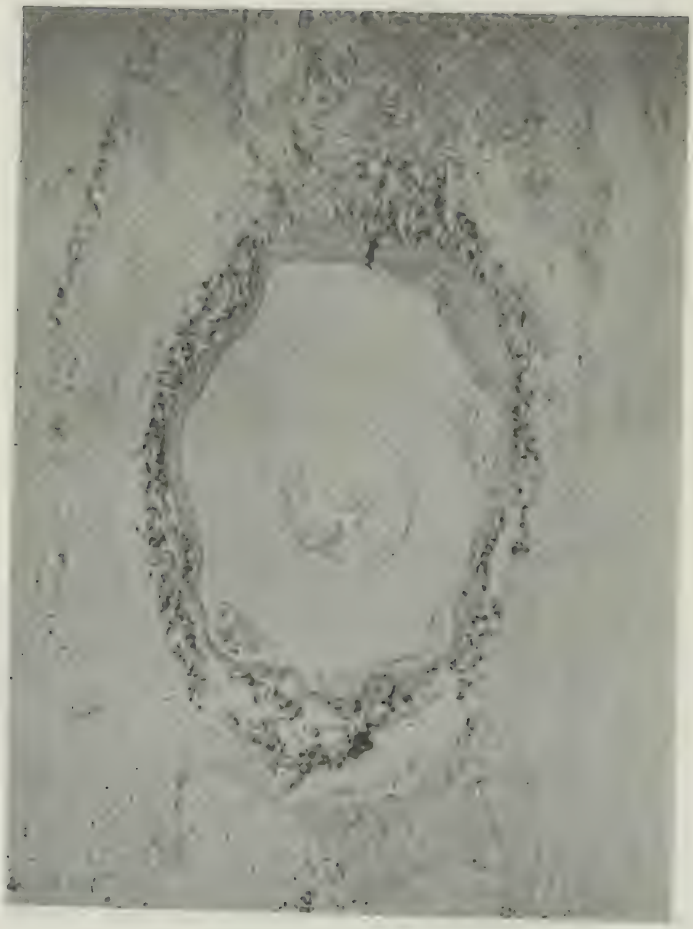


Abbildung 13 : Lage des Venenkatheters in der Ohrvene eines Versuchstiers

Formalin, Paraffin, Fibrinfärbung n. Ladewig, x 400

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluß eines Fibrinolysehemmers auf Verbrauchskoagulopathie und disseminierte intravasale Gerinnung untersucht.

Im Rahmen zweier Einzelarbeiten wurde folgende zentrale Frage geklärt :

Inwieweit läßt sich eine experimentell erzeugte Verbrauchskoagulopathie durch Fibrinolysehemmung mit Trasylol beeinflussen; und wann läßt sich diese Wirkung als disseminierte intravasale Gerinnung histologisch nachweisen.

1. Dextraninfusion (Blindwerte)

Der allein bei gerinnungsphysiologischer Analyse aufgetretenen Thrombozytopenie (50 %) konnte kein eindeutiges histologisches Substrat gegenübergestellt werden; allenfalls können in der Lunge Kapillarverödungen durch ein diffuses interstitielles Odem auf Grund der Hyperinfusion auftreten.
Thrombozytenaggregate und Fibrinthromben konnten weder an diesen Stellen noch in der Niere als Komplikation bei der Dextraninfusion nachgewiesen werden. (31, 32, 36)
Parallel mit den histologischen Zeichen einer Hyperinfusion, die bei vielen Versuchen verzeichnet wurde, konnte auch bei allen weiteren Versuchen ein kontinuierlicher Abfall des Hämatokriten festgestellt werden.

2. Thrombin ohne Inhibitor

Gerinnungsphysiologisch konnte ein Abfall der Gerinnungsfaktoren der Vorphase, eine Hypofibrinogenämie und eine Thrombozytopenie nachgewiesen werden. Der Abfall der Gerinnungsfaktoren war so massiv, daß das Vorliegen einer Verbrauchskoagulopathie angenommen werden mußte. (16, 17, 18, 19)

Die maximale Amplitudendifferenz der Thrombelastographie wurde unmittelbar nach dem Ende der Thrombininfusion (ta^{+} Thrombin 0 Minuten) und 10 Minuten nach Ende der Thrombininfusion (ta^{+} Thrombin 10 Minuten) gemessen. (11, 45)
Ob in dieser Periode des maximalen Abfalls gerinnungsfähiger Substanzen eine vorübergehende intravaskuläre Gerinnung auftrat, konnte nicht nachgewiesen werden, da zu dieser Zeit keine Versuchstiere getötet wurden. Da in den folgenden zwei Stunden in der Histologie zu keinem Zeitpunkt die Folgezustände oder das Bild einer abgelaufenen intravasalen Gerinnung zu sehen waren, ist es fraglich, ob zu dem oben genannten Zeitpunkt (ta^{+} Thrombin 0 Minuten und ta^{+} Thrombin 10 Minuten) Fibrinthromben im Kapillarbett von Niere und Lunge überhaupt aufgetreten sind, und/ oder kompensatorisch überschießende Reaktionen des fibrinolytischen Systems den Nachweis von Fibrinthromben verhinderten. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Beobachtungen anderer Autoren (35), die ebenfalls nach langsamer intravenöser Infusion von Thrombin beim Kaninchen keine generalisierte intravasale Gerinnung nachweisen konnten. (34)

3. Inhibitor ohne Thrombin

Bei Applikation von Trasylol ohne Thrombin kommt es zu keiner Fibrinthrombenbildung in der Mikrostrombahn von Niere und Lunge, lediglich zu einem geringen Abfall der in den angewendeten Analysen bestimmten Gerinnungsfaktoren. (28) Besonders das extrinsic system reagierte zwischen 90 und 100 Minuten nach Beginn der Inhibitorapplikation mit dem Abfall seiner gerinnungsfähigen Substrate.
Ein reaktiver Abfall von Gerinnungsfaktoren als Folge der Plasmininhibition könnte die Ursache der Veränderungen im Gerinnungspotential der Vorphase sein. (40)

$^{+}$: ta time after

4. Inhibitor mit Thrombin

Durch die kombinierte Gabe von Thrombin und Inhibitor (Trasylol) konnte die durch alleinige Gabe von Thrombin hervorgerufene Verbrauchskoagulopathie verstärkt werden. Nur das intrinsic system reagierte mit geringerer Amplitudenverschiebung. (3)
60 bis 100 Minuten nach Trasylolapplikation wurden Hypofibrinogenämie, Thrombozytopenie und ein Abfall der gerinnungsfähigen Faktoren des intrinsic system verzeichnet. (1, 3, 28)
Dieses Phänomen war unabhängig von der Thrombininfusion und unabhängig von dem Typ der Trasylolapplikation.

Zwischen 80 - 100 Minuten nach Beginn der Trasylolapplikation wurde die massive intravaskuläre Gerinnung in den Glomerulumkapillaren und weniger ausgeprägt auch im übrigen Kapillarbett der Niere beobachtet. Auch das Auftreten dieses Phänomens war unabhängig von der Thrombininfusion und unabhängig vom Typ der Trasylolapplikation.
Massive intravasale Gerinnung war maximal 50 Minuten lang nachweisbar, parallel zur Plateaubildung der Plasmawerte, wenn der Inhibitor vor der Thrombininfusion appliziert wurde (Modus "B").
Demnach ist das Auftreten der massiven intravasalen Gerinnung ungefähr 20 Minuten nach der maximalen Amplitudenverschiebung der Plasmaanalysen zu erwarten.
Im Gegensatz zum intrinsic system zeigt das extrinsic system Abhängigkeit zur Thrombininfusion. Sein Potential scheint allein durch die auf Grund von Thrombin hervorgerufenen Verbrauchskoagulopathie erschöpft. (1, 39)

Wir interpretieren dieses massive Auftreten von Fibringerinnseln mit der schon bekannten hemmenden Wirkung von Trasylol auf die " Plasminogenaktivierung als auch auf das aktive Plasmin selbst " und damit auf " den fibrinolytischen Abbau von Fibrin, Fibrinogen, der Gerinnungsfaktoren V und VIII. " (3, 44) Vorraussetzung dafür ist eine Vorschädigung des Gerinnungssystems durch einen Abfall der

gerinnungsfähigen Faktoren im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie nach Thrombininfusion.
Das Auftreten von länger nachweisbaren, stabilisierten Fibrinhtromben und die Plateaubildung der Amplitudendifferenz der Plasmaanalysen scheint unabhängig von der aktuellen Plasmakonzentration an Trasylol zu sein. - Bereits 27 bis 58 Minuten nach Trasylolapplikation ist nur mehr mit weniger als 50 % des maximalen Blutspiegels an Trasylol zu rechnen. (25)
Vielmehr scheint das fibrinolytische Potential erst eine Stunde nach Beginn der Applikation des Inhibitors Trasylol soweit gehemmt zu sein, daß sich der Zustand der plasmatisch latenten Verbrauchskoagulopathie, " occult clotting " (24) als disseminierte intravasale Gerinnung manifestiert und perpetuiert.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AMRIS, C., J.: Inhibition of Thromboplastic Activity
by Trasylol
Neue Aspekte der Trasyloltherapie
Schattauer (Stuttg.) 44 - 51 (1965)

2. BLEYL, U., KUHN, W., GRAEFF, H.: Reticuloendotheliale Clearence
intravasaler Fibrinmonomere in der Milz
Thrombos. diathes. hämorrh. 22 : 87 - 100 (1969)

3. BLOMBÄCK, B., BLOMBÄCK, M., and OLSSON, P., I.: Action of a
proteolytic enzyme inhibitor on blood coagulation
in vitro
Neue Aspekte der Trasyloltherapie
Schattauer (Stuttg.) 33 - 43 (1965)

4. BRECHER, G., CRONKITE, E., P.: Morphology and enumeration of
human platelets
J. Appl. Physiol. 3 : 365 (1950)

5. DAVIE, E., W., RETNOFF, O., D.: Waterfall sequence for intrinsic
blood clotting
Science 145 : 1310 - 1312 (1964)

6. DEMNING, W., E.: Some theorie of sampling
Wiley and Sons New York (Champon and Hall
London) 620 ff. (1950)

7. DE NICOLA, P.: Thrombelastographie
Springfield I 11 : 49 - 63 (1957)

8. DEUTSCH, E., NAEGELI, TH.: Thrombotische Erkrankungen
Schattauer (Stuttg.)

9. GANS, H., STERN, R., TAN, B., H.: On the vivo clearence of thrombin
Thrombos. diathes. hämorrh. 22 : 1 - 12 (1969)

10. HARTERT, H.: Die Thrombelastographie, Eine Methode zur physikalischen Analyse des Blutgerinnungsvorgangs
Z. ges. exp. Med. 117 : 189 (1951)

11. HJORT, P., MC GEHEE, W., G., RAPAPORT, J.: Effects of thorium dioxide upon blood clotting and platelets
Thrombos. diathes. hämorrh. 12 : 333 (1966)

12. JÜRGENS, R., STUDER, A.: Zur Wirkung des Thrombins
Helv. physiol. pharmac. acta 6 : 134 (1948)

13. KELLERER, H.: Theorie und Technik des Stichprobenverfahrens
Einzelschriften d. dt. stat. Gesell.
München 3

14. LADEWIG, J., F.: Mikroskopische Technik 55 : 215 (1938)

15. LANGDELL, R., D., WAGNER, R., H., BRINKHAUS, K., M.: Effect of antihämophilic factor on onestage clotting test
J. Lab. & Clin. Med. 41 : 637 (1953)

16. LASCH, H., G., HEENE, D., L.: Diagnosis of intravascular coagulation and fibrinolysis
Thrombos. diathes. hämorrh.
Stuttg. Suppl. 26 : 351 (1967)

17. LASCH, H., G., HEENE, D., HUTH, K., SANDRITTER, W.: Pathophysiology, clinical manifestation and theorie of consumption coagulopathie
Americ. J. Cardial, 20 : 381 (1967)

18. LASCH, H., G., KRECKE, H., J., RODRIGUEZ - ERDMANN, F., SASSNER, H., H., SCHUTTERLE, G. : Verbrauchskoagulopathien (Pathogenese + Therapie)
Folia haemat. (Frankf.) 6 : 1 (1961)

19. LASCH, H., G., RODRIGUEZ - ERDMANN, F. : Verbrauchskoagulopathien
Folia haemat. NF. 6 : 325 (1961)

20. LECHNER, K., REGALA, H., WALDHÄUSL, W., KARABATH, H.: Verbrauchskoagulopathie bei metastasierendem Prostatakarzinom
Acta hämat. 40 : 95 - 103 (1968)

21. LEE, L.: Reticuloendothelial clearence of circulating fibrin in the pathogen. of the Sanarelli - Schwartzmann Phenomen
J. Exp. Med. 115 : 1065 (1962)

22. LUDWIG, H., SCHLEMMER, H.: Die Stabilisierung des fibrinolytischen Systems mit einem Fibrinolyse - Inhibitor
Inaug. Dissert. (München) 24 - 26 (1968)

23. MAMUCI, P., M., LAHINA, G., CAOCCI, L., DIOGURARDI, N.: Effect on blood coagulation of massive intravascular hemolysis
Blood 23 : 207, 509 (1969)

24. MC KAY, D., G.: Disseminated intravascular Coagulation
Hoeber Med. Div. (New York) (1965)

25. MARX, R., WILKENING, J.: Zur Frage der Beeinflußbarkeit des Defibrinierungssyndroms infolge von Infusion körpereigener Gewebs-Thrombokinase durch Trasylol im Tierexperiment
Inaug. Dissert. (München) 80 (1968)

26. MC FARLANE, R., G.: An encyme cascade in blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier
Nat. (London) 202 : 498 (1964)

27. NÄGELI, Th., u. a.: Die thromboembolischen Erkrankungen
Schattauer (Stuttg.) 573 ff. (1960)

28. NORDSTRÖM, S., OLSSON, P., BLOMBÄCK, M.: On the antithromboplastic activity of Trasylol
Neue Aspekte der Trasyloltherapie
Schattauer (Stuttg.) 44 - 51 (1965)

29. ÖRGE - ANWAR, A., H., CONWALL, G., E., MUSTART, J., F.:
The activation of factor VIII by thrombin
Blood 26 4 : 500 ff. (1965)

30. PERKINS, H., A., ROLFS, M., R.: Quantitativ assay of Fibrinogen and fibrinolytic activity
Blood 22 4 : 497 (1963)

31. PFLEIDERER, Th., BROSSMER, R.: Erhöhung der Klebrigkeit durch geladene Makromoleküle
Thrombos. diathes. hämorrh. 18 : 674 (1967)

32. PFLEIDERER, Th., BROSSMER, R.: Die Bedeutung der plasmatischen Athmosphäre für calciumabhängige und calciumunabhängige Aggregation
Thrombos. diathes. hämorrh. 19 : 459 - 465 (1968)

33. QUICK, A., J.: The thromboplastin reagent for the determination of prothrombin
Science 92 : 112 (1940)

34. QUICK, A., J., HUSSEY, C., V., HARRIS, J., PETERS, K.:
Effect of injecting thrombin intravenously
Fred. Proc. 18 : 305 (1959)

35. ROBBINS, B., COLLINS, R., D.: Studies on the Sanarelli - Schwartzmann reaction. Production of the renal lesion by intraaortic infusion of thrombin
Fred. Proc. 20 : 261 (1961)

36. RODRIGUEZ - ERDMANN, F., LASCH, H., G.: Quantitative und qualitative Störungen der Thrombozyten nach Injektion von hochmolekularen Polymeren
Thrombos. diathes. hämorrh. 5 : 518 (1968)

37. SCHULZ, F., H.: Eine einfache Bewertungsmethode von Leberparenchymschäden (volumetrische Fibrinbestimmung)
Acta hepatol. 3/I : 306 - 310 (1955)

38. SCHWALM, H.: Diskussionsbemerkungen in : Runge, H., Hartert, I.: Physiologie und Pathologie der Blutgerinnung in der Gestationsperiode
Stuttgart : 77 - 79 (1957)

39. SCHWICK, H., G.: Reindarstellung von Faktor V und VIII
Blood 3 16 : 150 (1967 / 68)

40. SEEGERS, W., H.: Prothrombin
Harvard Univ. Press. Cambridge, Mass. (1962)

41. SEEGERS, W., H., MARCINICK, E., HEENE, L.: Enzyme basis of Prothrombin activation (blood clotting) with an analysis of Hemophilie B
Texas Rep. Biol. Med. 23 : 675 (1965)

42. SEEGERS, W., H., BULLEMER, G.: Die generalisierte intravasale Gerinnung und deren Therapie bei metabolischer Acidose
Inaug. Dissert. (München) (1970)

43. STEICHELE, D., F., HERSCHLEIN, H., J.: Untersuchungen über die Fibrinolyse bei Äquivalenten des Sanarelli - Schwartzmann - Phänomens in der Geburtshilfe
Thrombos. diathes. hämorrh. 18 : 463 (1967)

44. TRUSCHEIT, E.: Anwendungsgebiete der Enzymtherapie
Therapeutische Berichte Bayer Leverkusen
43 J. 2 : 154 (1971)

45. VINAZZER, H.: Der Einfluß von Heparin auf die akute Verbrauchskoagulopathie und die folgende Hyperkoagulämie - Eine tierexperimentelle Studie
Thrombos. diathes. hämorrh. 19 : 255 - 266 (1968)

46. WERLE, E., MARX, R., TRAUTSCHOLD, I., REICHENBACH - KLINKE, K., E.: Vergleiche der Proteinasen - Inhibitoren aus Lunge und Leber vom Rind mit besonderer Berücksichtigung ihres Einflusses auf Fibrinolyse und Blutgerinnung
Blood 4 14 : 206 (1966 / 67)

Mein aufrichtiger Dank gebührt Herrn Priv.- Doz. Dr. med. Ludwig für die freundliche Überlassung des Themas.
Zu besonderem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. med. Zander verpflichtet für die Übernahme des Coreferats.
Außerdem möchte ich meinen Dank an Frl. Metzger richten, die mir die histologischen Präparate angefertigt hat.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 4. Januar 1947 in Stöckheim, Kreis Einbeck / Hannover geboren. Ab 1953 besuchte ich die Volksschule in Karlsruhe. 1956 zog meine Familie nach München, wo ich 1957 in das humanistische Maximilians-Gymnasium eintrat. Das Abitur legte ich 1966 ab und begann im selben Jahr mit meinem Medizinstudium an der Universität München. Dort bestand ich 1967 das Vorphysikum und 1969 die ärztliche Vorprüfung. Mein klinisches Studium absolvierte ich ebenfalls in München. Hier war ich auch während drei Semester als Co - Assistent im anatomischen Institut tätig. Mein Studium schloß ich am 19. 6. 1972 mit bestandenem medizinischen Staatsexamen ab.